Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. K. Greeff

BEEINFLUSSUNG DES MYOKARDIALEN ELEKTROLYT-STOFFWECHSELS DURCH POSITIV INOTROPE KONZENTRATIONEN HERZWIRKSAMER GLYKOSIDE

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Joachim Felgenträger
und
Bernd Zettner

1979
1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543910_0080

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. K. Greeff

BEEINFLUSSUNG DES MYOKARDIALEN ELEKTROLYT-STOFFWECHSELS DURCH POSITIV INOTROPE KONZENTRATIONEN HERZWIRKSAMER GLYKOSIDE

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Joachim Felgenträger
und
Bernd Zettner

1979

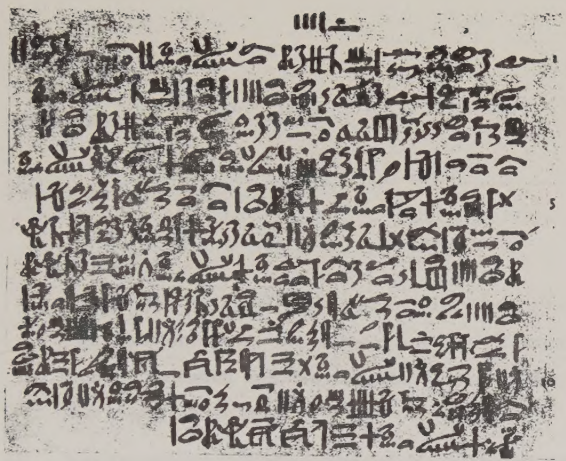
UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. Reinauer

Referent
gez. Prof. Dr. Noack
Korreferent
gez.: Prof. Dr. Grabensee

Unserem verehrten Lehrer, Herrn Studiendirektor Dr. Josef Feix



Papyrus Ebers; 16. Jh. v. Chr.

(Nach einer Übersetzung:
Ein anderes, Krankheiten am Herzen zu vertreiben

Dattelmehl	1/4
Meerzwiebel	1/32
Amamu	1/3
süßes Bier	1/3 dena
tehebu-Baum	1/2

kochen, durchseihen und vier Tage einnehmen.)

Σκίλλα ... εἰς ποτήματά τε καὶ ἁρωματικὰς δυνάμεις, καὶ ἐφ' ὧν οὔρησιν κινήσαι θέλομεν, καὶ ἐπὶ ὑδρωπικῶν καὶ ἐπὶ ... βηττόντων χρονίως, ἀσθματικῶν, ἀναφορικῶν.

Dioskurides, Mat. med. II, 171; 1. Jh. n. Chr.

Tosta (scilla) quoque purgatur et medium eius iterum in aqua coquitur. Usus sic coctae ad hydropicos, ad urinam ciendam tribus obolis cum melle et aceto potae, item splenicos.

Plinius, Nat. hist. XX, 100 ; 1. Jh. n. Chr.

Die Meerzwiebel (Scilla maritima) enthält die herzwirksamen Glykoside Szillaren A und Proszillaridin A.

Inhalt

		Seite
A	Einleitung	4
B	Methode	5
C	Ergebnisse	9
	I Größe des Extrazellulärraumes, der absoluten Kontraktionskraft, der intrazellulären Elektrolytkonzentrationen und des ausgetauschten Kalziums der Kontrollwerte.	9
	II Konzentrations/Wirkungskurve für g-Strophanthin.	11
	III Versuchsreihen	12
	a) g-Strophanthin in einer Konzentration von 0,2 µMol/l	12
	b) Digitoxigenin in einer Konzentration von 0,6 µMol/l	15
	c) Kalziumkonzentration der Tyrode 0,9 µMol/l (gegenüber Normaltyrode auf die Hälfte reduziert), g-Strophanthin in einer Konzentration von 0,25 µMol/l	18
	d) g-Strophanthin in einer Konzentration von 0,1 µMol/l	22
	e) Isoproterenol in einer Konzentration von 18 nMol/l	25
	Anhang: Tabellen	28
D	Diskussion	33
E	Zusammenfassung	45
	Literaturverzeichnis	49

A Einleitung

Zahlreiche in den letzten Jahren veröffentlichte Forschungsarbeiten lassen erkennen, daß bei der Suche nach dem Mechanismus des positiv inotropen Effektes herzwirksamer Glykoside der Beeinflussung des myokardialen Elektrolytstoffwechsels besondere Bedeutung zukommt:

Wie im Nerven- und Skelettmuskelgewebe so ist auch in der Herzmuskulatur die Voraussetzung für die Erregbarkeit der Zelle die unterschiedliche Verteilung von Na^+- und K^+-Ionen zwischen Intra- und Extrazellulärraum, welche zur Ausbildung eines Membranpotentials führt. Im Ruhezustand ist dieses Potential hauptsächlich Ausdruck eines vom Zellinneren nach außen gerichteten Kaliumgradienten bei weitgehend selektiver Kaliumpermeabilität. Mit dem Eintritt der Erregung kommt es zusätzlich zu einer plötzlichen Erhöhung der Membranleitfähigkeit für Na^+-Ionen, die entsprechend dem Konzentrationsgefälle in die Zelle diffundieren und so das Aktionspotential einleiten. Im Gegensatz zu anderen erregbaren Geweben bleibt an der Herzmuskelzelle die hierdurch bewirkte Umkehr des Membranpotentials längere Zeit in Form eines Plateaus bestehen, das in erster Linie von einem Ca^{2+}-Einstrom in die Zelle getragen wird (Reuter und Beeler, 1969).

Während der nachfolgenden Repolarisation kommt es vorübergehend zu einer Verstärkung des K^+-Ausstromes aus der Zelle bei gleichzeitiger Abnahme der Natriumpermeabilität, bis das Ruhepotential wiederhergestellt ist.

Die für die geschilderten Vorgänge erforderlichen Na^+- und K^+-Konzentrationsgradienten werden von einem durch die membrangebundene Na^+/K^+-ATPase gesteuerten aktiven Transportmechanismus aufgebaut bzw. aufrechterhalten.

Die Koppelung zwischen Aktionspotential und Muskelkontraktion wird durch Ca^{2+}-Ionen hergestellt, welche durch Bindung an Troponin dessen Hemmwirkung auf die Aktin/Myosin-Interaktion aufheben. Im Gegensatz zur Skelettmuskulatur spielt dabei in der Herzmuskelzelle eine Kalziumfreisetzung aus dem hier ohnehin nur spärlich ausgebildeten sarkoplasmatischen Retikulum wahrscheinlich keine entscheidende Rolle.
Chapman (1971) glaubt stattdessen, das während des Aktionspotentials einströmende Ca^{2+} "triggere" in der Zelle die Entleerung von vor allem an der Innenseite der Membran lokalisierten Kalziumspeichern.
Langer (1973) postuliert darüber hinaus ein zusätzliches, mit dem Extrazellulärraum in raschem Austausch stehendes Kalziumkompartiment. Als morphologisches Substrat vermutet er die sich auch in die transversalen Tubuli der Herzmuskelzelle hinein fortsetzende Basalmembran, welche auf Grund ihres Mukopolysaccharidgehaltes zahlreiche negative Bindungsstellen enthält.
Lüllmann (1976) vertritt hingegen die Hypothese, daß es durch eine beim Aktionspotential auftretende Erhöhung der Protonendichte in der Zellmembran zu einer Verdrängung von Kalzium aus Bindungen an Phospholipide komme, wodurch Ca^{2+}-Ionen freigesetzt würden.
Das während des Aktionspotentials einströmende Kalzium wird durch einen aktiven Transportmechanismus wieder aus der Zelle "herausgepumpt", wobei eine Beteiligung der Membran-ATPase zur Diskussion steht (Heinen und Noack, 1972; Kasparek, 1976; Lüllmann, 1976).

Auf Grund dieser Befunde ist es verständlich, daß Veränderungen

der intra- oder extrazellulären Kalium-, Natrium- und Kalziumkonzentrationen bzw. des Umsatzes dieser Elektrolyte die Kontraktionskraft des Herzmuskels beeinflussen können: So kommt es z. B. parallel mit ansteigenden Kalziumaußenkonzentrationen zu einer Zunahme des Kalziuminfluxes und der Kontraktionskraft (Mascher und Peper, 1969; Reuter und Beeler, 1969; Ochi, 1970; New und Trautwein, 1972; Egli, 1975).
Fleckenstein und Kaufmann (1966) nehmen eine Koppelung von Kalziumeinwärts- und Kaliumauswärtstransport an und erklären so den gelegentlich gefundenen positiv inotropen Effekt einer Erhöhung des $[K]^+_i/[K]^+_a$-Gradienten.
Bei einer Steigerung der Natriumaußenkonzentration kommt es zur Abnahme der Kontraktionskraft, da sich Na^+- und Ca^{2+}-Ionen während des Aktionspotentials beim Einstrom in die Zelle kompetitiv antagonistisch verhalten (Niedergerke, 1957 und 1959; Langer, 1964).
Den gleichen Zusammenhang nimmt Langer (1971) unter Berücksichtigung von Versuchen, die Baker et al. (1969) an Tintenfischaxonen vornahmen, für den Einfluß der intrazellulären Na^+-Konzentration auf die Herzmuskelkontraktionskraft an. Danach führt ein vermehrter Natriumgehalt der Zelle über einen verstärkten Kalziumeinstrom ebenfalls zu einem positiv inotropen Effekt; darüber hinaus könnte aber auch die Kompetition von Na^+- und Ca^{2+}-Ionen um intrazelluläre Bindungsstellen, z. B. an Mitochondrien und Sarkolemm, eine zusätzliche Kalziumfreisetzung bewirken (Noack und Greeff, 1975).

Angesichts dieser und anderer Beispiele für die vielfältigen Beeinflussungsmöglichkeiten der Kontraktionskraft liegt der Gedanke nahe, daß auch der positiv inotrope Effekt herzwirksamer Glykoside

mit einer Änderung des Elektrolytgleichgewichtes einhergeht bzw. so ermöglicht wird. Daher wurden in der vorliegenden Arbeit an isolierten Meerschweinchenvorhöfen die intrazelluläre Natrium-, Kalium- und Kalziumkonzentration sowie die Größe der ausgetauschten Kalziumfraktion nach verschiedenen Inkubationszeiten mit positiv inotropen Glykosidkonzentrationen untersucht.

B Methode

Isolierte linke Vorhöfe von Meerschweinchenherzen (durchschnittliches Gewicht der Tiere: 373 g ± 5 g, Minimum 250 g, Maximum 500 g ; durchschnittliches Herzgewicht: 1,09 ± 0,01 g; durchschnittliches Vorhofgewicht: 34,08 mg ± 0,56 mg; n = 272) wurden in der bei Noack und Heinen (1978) beschriebenen Weise auf Platinelektroden fixiert und in 10 ml Inulintyrode bei einer Temperatur von 30 ^{o} C inkubiert.
Die Begasung erfolgte mit einem Gemisch aus Karbogen und O_2, deren Anteile so bemessen wurden, daß sich ein konstanter pH-Wert von 7,4 einstellte. Bei einer Vorspannung von 1 p wurde die elektrische Reizung mit Rechteckimpulsen von 2 msec Dauer, doppelter Schwellenspannung und einer Frequenz von 1,5 Hz durchgeführt. Die Registrierung der Kontraktionskraft erfolgte mit Hilfe von Stathamelementen auf einem Hellige-Schreiber. Die Gesamtinkubationszeit betrug stets 60 Minuten. 15 Minuten vor Ende des Versuches wurde $^{45}CaCl_2$ der Badlösung zugegeben. Die Inkubationszeit der untersuchten Pharmaka (s. u.) betrug 1, 3, 5, 10, 15, 25 und 40 Minuten. Im Anschluß an den Versuch wurden die Vorhöfe nach Abtrennung von den Elektroden mittels Filterpapier oberflächlich getrocknet, gewogen und in 1 ml-Eppendorfgefäße eingebracht. Zusätzlich wurden aus den Badflüssigkeiten Proben von jeweils 0,1 ml zur Ermittlung der ^{45}Ca-Aktivität und von 0,01 ml als Bezugslösung für die Bestimmung des individuellen Extrazellulärraumes entnommen. Vorhöfe und Referenzlösungen wurden sodann zum Zwecke der Freisetzung der zellulären Elektrolyte bzw. der Hydrolyse des Inulins mit je 1 ml 0,5 N $HClO_4$ übergossen. Die 0,1 ml-Badprobe wurde mit 1 ml Aqua bidest. ver-

setzt.

Nach frühestens 24 Stunden wurden aus jedem Vorhofextrakt folgende Proben entnommen:

a) 0,2 ml für die Bestimmung des Inulinraumes;

b) je 0,1 ml für die Bestimmung des zellulären Natrium- und Kaliumgehaltes;

c) 0,25 ml für die Bestimmung des zellulären Kalziumgehaltes und

d) 0,2 ml für die Bestimmung der zellulären ^{45}Ca-Aktivität.

Zu a): Die Bestimmung des Inulinraumes als Maß für den Extrazellulärraum erfolgte nach Neutralisation der Probe mit 0,5 ml 0,2 N NaOH enzymatisch mit der Hexokinasemethode (s.u.).

Zu b): Die Bestimmung des zellulären Natrium- und Kaliumgehaltes erfolgte nach Verdünnung der Probe mit 1 ml Aqua bidest. emissionsspektrometrisch.

Zu c): Die Bestimmung der zellulären Kalziumkonzentration erfolgte in Anlehnung an die Methode von Geyer und Bowie (1961) nach Zugabe von 1ml einer 0,025 %igen $LaCl_3$-Lösung zur Probe mit Hilfe eines Atomabsorptionsspektrometers (Firma Beckman) bei einer Wellenlänge von 422,7 nm.

Zu d): Die Bestimmung der zellulären ^{45}Ca-Aktivität erfolgte nach Neutralisation der Probe mit 0,5 ml einer 0,2 N NaOH und Zugabe von 7 ml Brayscher Lösung (s. u.) in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (Tricarb Modell 3003, Packard).

Die Berechnung des ausgetauschten Kalziums erfolgte unter Be-

rücksichtigung der ^{45}Ca-Aktivität der Badflüssigkeit nach Noack und Heinen (1978).

Verwandte Lösungen und Substanzen:

1.) Inulintyrode als Inkubationsmedium; Zusammensetzung (Angaben in mMol/l): 136,9 NaCl; 2,68 KCl; 1,8 $CaCl_2$; 0,42 NaH_2PO_4; 11,9 $NaHCO_3$; 1,05 $MgCl_2$; 11,1 Glukose; ferner 10 g/l Inulin. (Die Kalziumkonzentration wurde in einer Versuchsreihe auf 0,9 mMol/l reduziert).

2.) Biochemica Testkombination: Hexokinasemethode (Boehringer, Mannheim) und Phosphoglukoseisomerase (EC 5.3.1.9. 1 mg/l) für die Inulinbestimmung.

3.) $^{45}CaCl_2$ (Spezifische Aktivität 721 mCi/mMol Ca^{2+}; New England Nuclear Chemicals Corp. Boston, USA) für die Bestimmung des ausgetauschten Kalziums.

4.) Braysche Lösung (Zusammensetzung: 31,6 mM 2,5-Diphenyloxazol; 1,02 mM Dimethyl-POPOP; 468 mM Naphthalin; 100 ml Äthylenglykol; 100 ml Methanol; Dioxan ad 1000 ml (Substanzen von Merck, Darmstadt)) als Szintillationsflüssigkeit.

5.) g-Strophanthin, Digitoxigenin, Isoproterenolsulfat (Boehringer, Mannheim) als untersuchte Pharmaka.

Statistische Auswertung:
Die Fehlerwahrscheinlichkeit für die Elimination extremer Werte innerhalb einer Stichprobe betrug 0,05.

Die Bestimmung der Signifikanzniveaus erfolgte mit Hilfe des Studentschen t-Testes.
Die Ergebnisse wurden als Mittelwerte plus/minus der Standardabweichung des Mittelwertes ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) angegeben.

C Ergebnisse

I Größe des Extrazellulärraumes, der absoluten Kontraktionskraft, der intrazellulären Elektrolytkonzentrationen und des ausgetauschten Kalziums der Kontrollwerte

In den verschiedenen Versuchsserien betrug die Größe des Extrazellulärraumes, der als mit dem Inulinraum identisch angesehen werden kann, im Mittel zwischen 27 und 31 %. Dies steht in Übereinstimmung mit den Arbeiten anderer Autoren: So fanden z. B. Kleinzeller und Knotkovà (1961) bei Meerschweinchenvorhöfen 25 bis 26 %, Bauer (1961) 32 % und Little und Sleator (1969) 27,5 %. Einheitliche signifikante Veränderungen in Abhängigkeit von der pharmakaniduzierten Kontraktionskraftsteigerung wurden nicht festgestellt. Zu diesem Ergebnis kamen auch Heinen und Noack (1972), sowie Klaus und Krebs (1974), wohingegen Carslake und Weatherall (1962) bei Kaninchenherzen unter Einwirkung von Digitalisglykosiden eine Verminderung des Extrazellulärraumes um bis zu 18 % des Ausgangswertes angaben, jedoch in Gegenwart toxischer Konzentrationen. Prinzipiell ist allerdings noch anzumerken, daß mit der in dieser Arbeit angewandten Methodik möglicherweise doch auftretende kleinere Veränderungen des Extrazellulärraumes durch Kardenolide - zu denken wäre insbesondere an eine Verringerung infolge eines Auspreßeffektes der Kontraktionskraftsteigerung - nicht sicher erfaßt werden können: Zwar würde deren Auswirkung auf die Berechnung der intrazellulären Ionenkonzentrationen voll berücksichtigt, zur Messung der absoluten Größe des Extrazellulärraumes ist die durchgeführte oberflächliche Trocknung der Vorhöfe mittels Filterpapier jedoch nicht genügend standardisierbar.

Ohne Beeinflussung durch herzwirksame Glykoside entwickelten die Vorhöfe eine durchschnittliche Kontraktionskraft von 1,7 p.
Kontrollgruppen im Hinblick auf die mittleren zellulären Elektrolytgehalte wurden gleichzeitig mit jeder Versuchsreihe erneut erstellt; auf diese Weise ergaben sich für die Kaliumkonzentration Werte in einem Bereiche von 101 bis 111 mMol/kg Zellgewicht, für die Natriumkonzentration von 22 bis 29 mMol/kg Zellgewicht, für die Kalziumkonzentration von 2,0 bis 2,6 mMol/kg Zellgewicht und für die Größe der intrazellulär ausgetauschten Kalziumfraktion - gemessen als zelluläre ^{45}Ca-Aktivität nach 15-minütiger Inkubation - von 41 bis 65 %. Diese Ergebnisse liegen innerhalb des in der Literatur angegebenen Rahmens.

(Im einzelnen sind die bei den Kontrollgruppen wie auch den nachfolgend beschriebenen Versuchsserien gefundenen Mittelwerte in den Tabellen aufgeführt.)

II Konzentrations/Wirkungskurve für g-Strophanthin

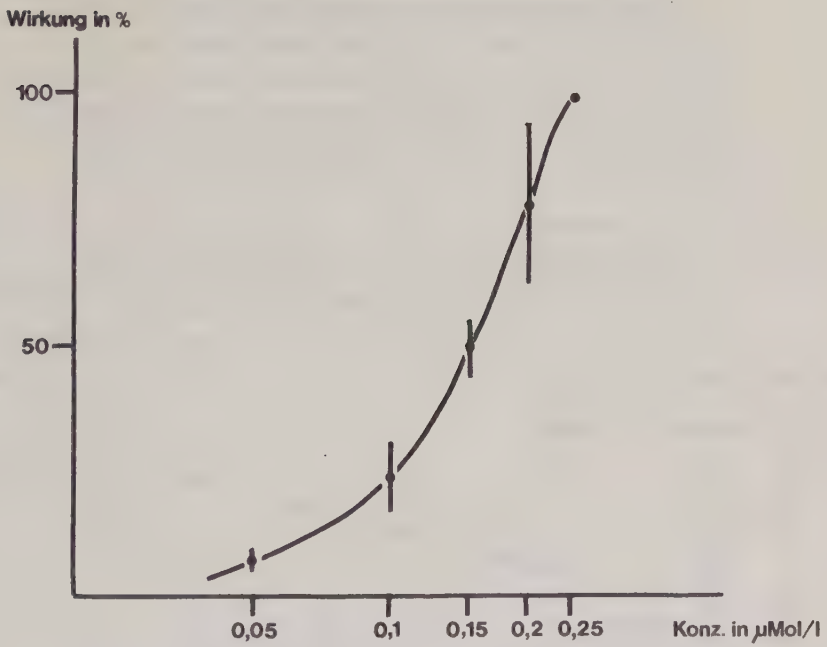


Abb. 1: Konzentrations/Wirkungskurve für g-Strophanthin; Abszisse: Glykosidkonzentration, Ordinate: Prozentualer Anteil der maximalen Kontraktionskraftsteigerung, die durchschnittlich 17 % der Ausgangsamplitude betrug (n = 12)

Vor Beginn der eigentlichen Versuchsserien wurde eine Konzentrations/Wirkungskurve für g-Strophanthin erstellt mit dem Ziele, eine möglichst stark positiv inotrop, jedoch keinesfalls toxisch wirkende Konzentration ausfindig zu machen. Die erste meßbare Kontraktionskraftsteigerung zeigte sich bei einer 0,05 µM

Strophanthinkonzentration. Die Berechnung der ED_{50} mit Hilfe der Logit-Transformation (Hafner et al., 1977) ergab einen Wert von 0,12 µMol/l (Peters et al.,1977, fanden 0,11 µMol/l). Oberhalb einer Konzentration von 0,3 µMol/l stellten sich stets toxische Zeichen ein. Daraufhin wurde für die erste Versuchsserie (s. III a) eine Strophanthinkonzentration von 0,2 µMol/l gewählt.

III Versuchsreihen:

a) g-Strophanthin in einer Konzentration von 0,2 µMol/l

1.) Kontraktionskraftsteigerung, ausgetauschtes Kalzium, Gesamtkalzium gehalt der Zelle

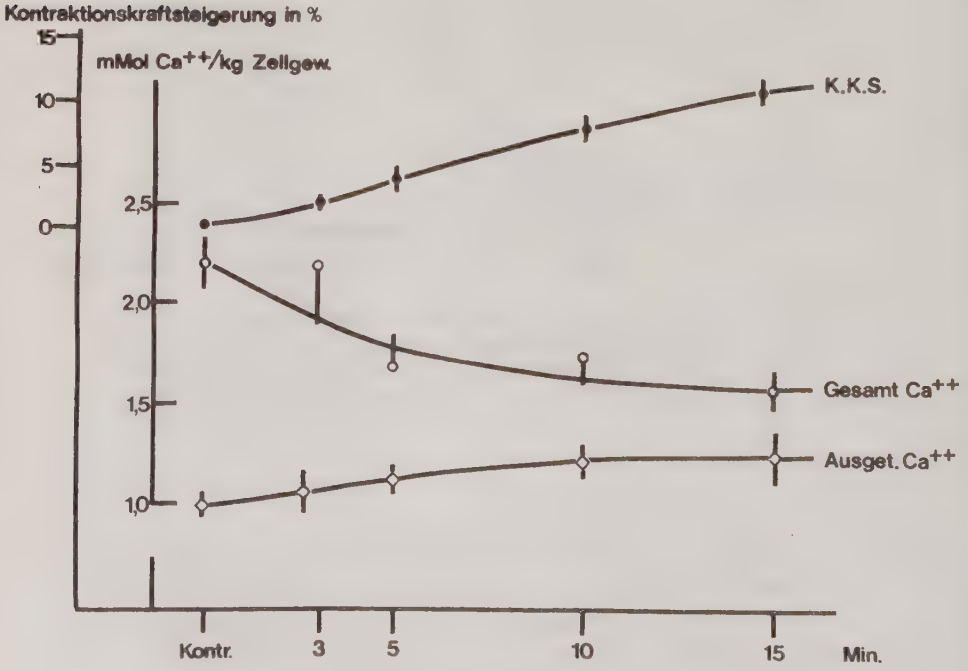


Abb. 2: Prozentuale Kontraktionskraftsteigerung (K. K. S.), Ca^{2+}-Gehalt der Zelle sowie intrazellulär ausgetauschte Kalziumfraktion in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 0,2 µM g-Strophanthin

Die Kontraktionskraft stieg nach der Strophanthinzugabe innerhalb von 15 Minuten kontinuierlich um durchschnittlich 11 % an. Ein stationärer Zustand konnte während dieser Zeit noch nicht erreicht werden. Parallel dazu nahm das ausgetauschte Kalzium um 25 % zu ($p < 0,001$; $n=9$). Demgegenüber fand sich beim Gesamtkalziumgehalt der Zelle ein Abfall um 30 % ($p < 0,05$; $n = 9$).

2.) Zellulärer Natrium- und Kaliumgehalt

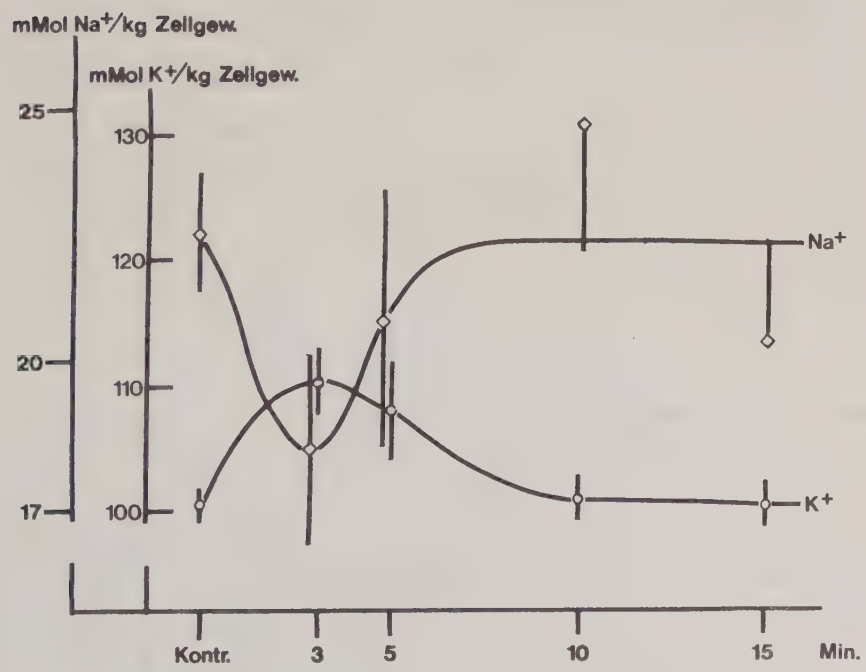


Abb. 3: Intrazelluläre K^+- und Na^+-Konzentration in Anhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 0,2 µM g-Strophanthin

Drei Minuten nach Zugabe des Strophanthins hatte die zelluläre Kaliumkonzentration um 10 % zugenommen ($p < 0,005$, $n = 9$), während sich gleichzeitig die Natriumkonzentration um 20 % verminderte ($p < 0,1$; $n = 8$). Weitere zwei Minuten später, also fünf Minuten nach Strophanthinapplikation, betrug die Kaliumzunahme noch 8 % ($p < 0,05$; $n = 9$); für Natrium zeigte sich keine signifikante Veränderung mehr. Nach zehn Minuten waren sowohl bei Kalium als auch bei Natrium die Ausgangswerte wieder erreicht.

b) Digitoxigenin in einer Konzentration von 0, 6 µMol/l

In der zweiten Versuchsserie sollte die Frage geklärt werden, ob sich die in Gegenwart von g-Strophanthin beobachteten Elektrolyteffekte auch durch andere herzwirksame Glykoside hervorrufen ließen. Nach Heinen und Noack (1972) konnte eine Digitoxigeninkonzentration von 0, 6 µMol/l als sicher nichttoxisch angenommen werden ; dies wurde in Vorversuchen bestätigt.

1.) Kontraktionskraft, ausgetauschtes Kalzium, Gesamtkalziumgehalt der Zelle

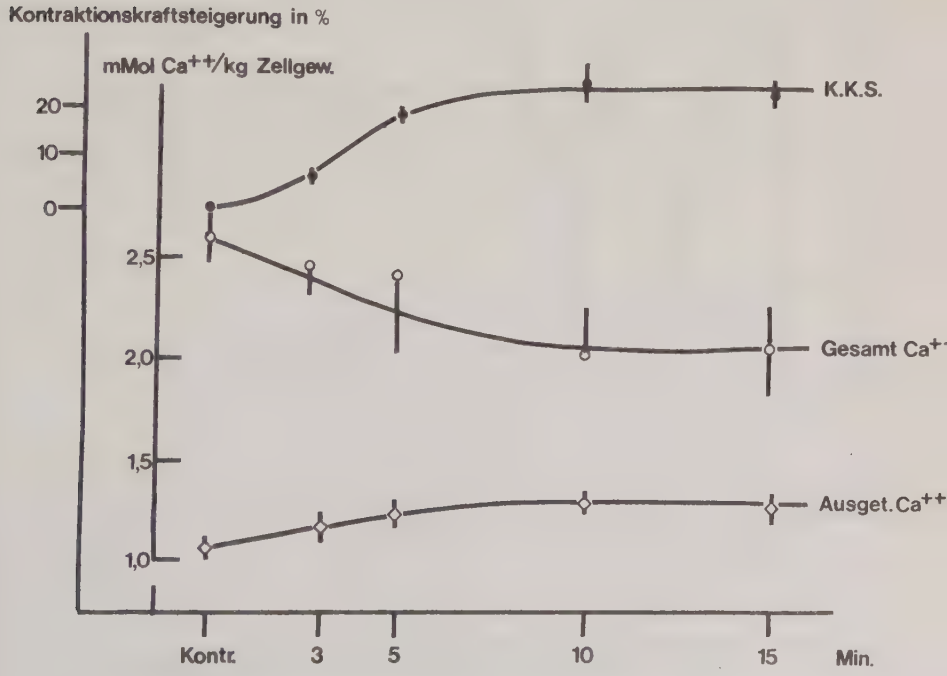


Abb. 4: Prozentuale Kontraktionskraftsteigerung, Ca^{2+}-Gehalt der Zelle sowie intrazellulär ausgetauschte Kalziumfraktion in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 0, 6 µM Digitoxigenin

Bereits zehn Minuten nach Zugabe des Digitoxigenins zur Badflüssigkeit war die beobachtete Kontraktionskraftsteigerung von 25 % abgeschlossen. Parallel hierzu stieg wieder das ausgetauschte Kalzium an und zwar um 20 % ($p < 0,001$; $n = 8$). Das Gesamtkalzium fiel um 20 % ab ($p < 0,02$; $n = 9$).

2.) Zellulärer Kalium- und Natriumgehalt

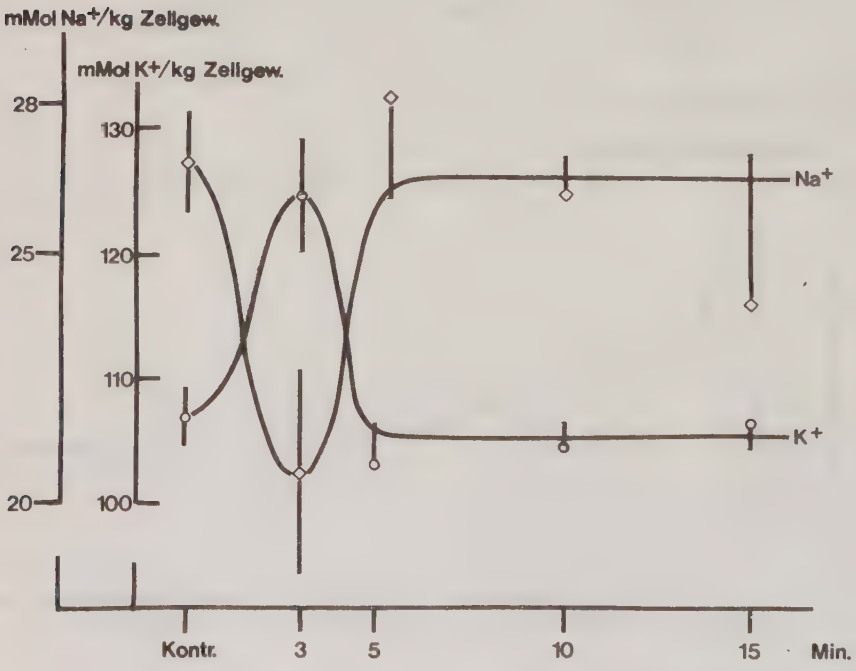


Abb. 5: Intrazelluläre K^+- und Na^+-Konzentration in Anhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 0,6 µM Digitoxigenin

Drei Minuten nach der Digitoxigeninapplikation hatten die zelluläre Kaliumkonzentration um 17 % zu- ($p < 0,001$; $n = 8$) und die zelluläre Natriumkonzentration um 20 % abgenommen ($p < 0,005$; $n = 9$). Bereits nach fünf Minuten unterschieden sich sowohl die Kalium- als auch die Natriumwerte nicht mehr von denen der Kontrollversuche.

c) Kalziumkonzentration der Tyrode: 0,9 mMol/l (gegenüber der Normaltyrode auf die Hälfte reduziert)
g-Strophanthin in einer Konzentration von 0,25 µMol/l

Bei der Reduzierung der Kalziumkonzentration in der Badflüssigkeit ist die durchschnittliche Kontraktionskraft der Herzmuskulatur vermindert (Winegrad und Shanes, 1962; Mascher und Peper, 1969; Beeler und Reuter, 1970; Ochi, 1970; New und Trautwein, 1972; Egli, 1975). Der positiv inotrope Effekt herzwirksamer Glykoside wird dadurch relativ verstärkt und tritt zeitlich verzögert auf. Darüber hinaus setzen toxische Zeichen erst bei höheren Glykosidkonzentrationen ein. Daher konnte, wie Vorversuche ergaben, eine gegenüber der früheren Serie mit Normaltyrode um 25 % höhere Strophanthinkonzentration, nämlich 0,25 µMol/l, gewählt werden, ohne daß die Gefahr des Auftretens von Arrhytmien und Kontrakturen bestand.

1.) Kontraktionskraft, ausgetauschtes Kalzium, Gesamtkalziumgehalt der Zelle (s. S. 19)

Die absolute Kontraktionskraft lag bei Versuchsbeginn um durchschnittlich 38 % unter derjenigen bei normalem Kalziumgehalt der Badflüssigkeit.

Nach der Strophanthinzugabe zeigte sich eine deutliche positivinotrope Wirkung erst nach drei bis fünf Minuten. Die dann kontinuierlich verlaufende Kontraktionskraftsteigerung betrug nach 15 Minuten 30 % und nach 40 Minuten 120 %, ohne jedoch bis dahin zum Abschluß gekommen zu sein.

Die ausgetauschte Kalziumfraktion verhielt sich ähnlich: Sie stieg von einem gegenüber Normaltyrode um 36 % verminderten Wert verzögert um 30 % nach 40 Minuten an ($p < 0,025$; $n = 7$).

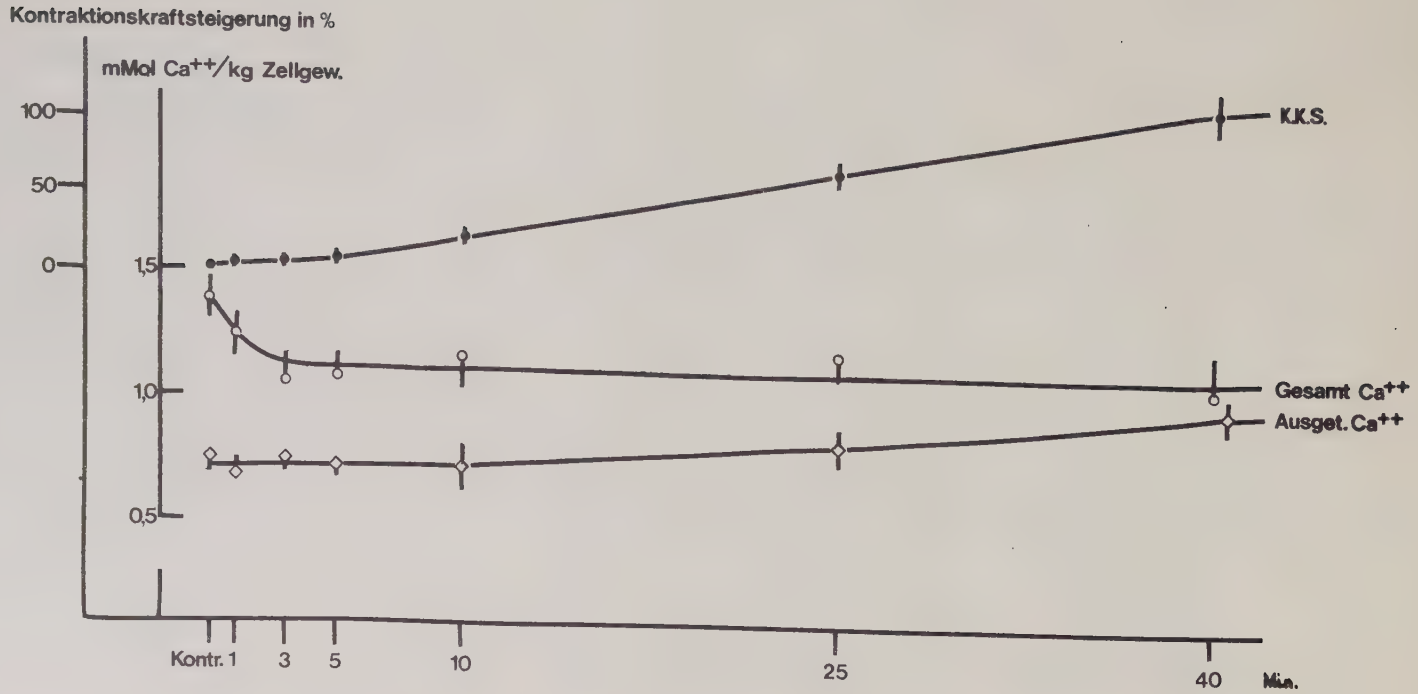


Abb. 6: Prozentuale Kontraktionskraftsteigerung, Ca^{2+}-Gehalt der Zelle sowie intrazellulär ausgetauschte Kalziumfraktion in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 0,25 µM g-Strophanthin (Ca-Gehalt der Tyrode halbiert)

Demgegenüber vollzog sich die Abnahme des zellulären Gesamtkalziums vor allem in den ersten zehn Minuten der Strophanthininkubation; nach 40 Minuten wurden schließlich Konzentrationen erreicht, die um 25 % unter den Kontrollwerten lagen ($p < 0,025$; $n = 7$).

2.) Zellulärer Natrium- und Kaliumgehalt (s. S. 21)

Nach einer nicht signifikanten Kaliumab- und einer etwas stärkeren Natriumzunahme eine Minute nach Strophanthinzugabe kam es verglichen mit den Versuchsreihen bei normalem Kalziumgehalt der Tyrode verzögert, der Beeinflussung der Kontraktionskraft und des ausgetauschten Kalziums jedoch entsprechend, zu einem Anstieg der zellulären Kaliumkonzentration um 7 % ($p < 0,01$; $n = 8$) und zu einem Abfall der zellulären Natriumkonzentration um 20 % ($p < 0,025$; $n = 7$). Die zu späteren Zeiten gemessenen Werte entsprachen dann wieder dem Ausgangsniveau.

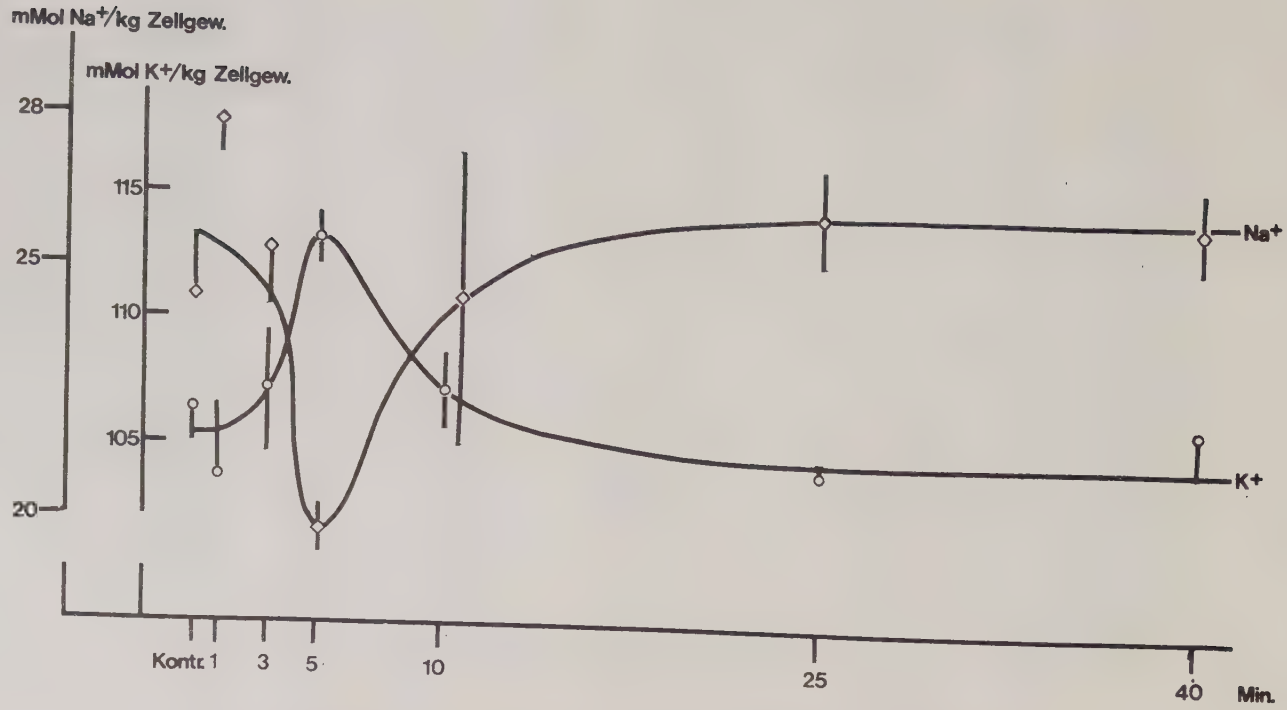


Abb. 7: Intrazelluläre K^+- und Na^+-Konzentration in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 0,25 µM g-Strophanthin (Ca-Gehalt der Tyrode halbiert)

d) g-Strophanthin in einer Konzentration von 0,1 µMol/l

Diese Versuchsserie sollte klären, inwieweit niedrigere Konzentrationen herzwirksamer Glykoside den zellulären Elektrolytumsatz beeinflussen.

1.) Kontraktionskraft, ausgetauschtes Kalzium, Gesamtkalziumgehalt der Zelle

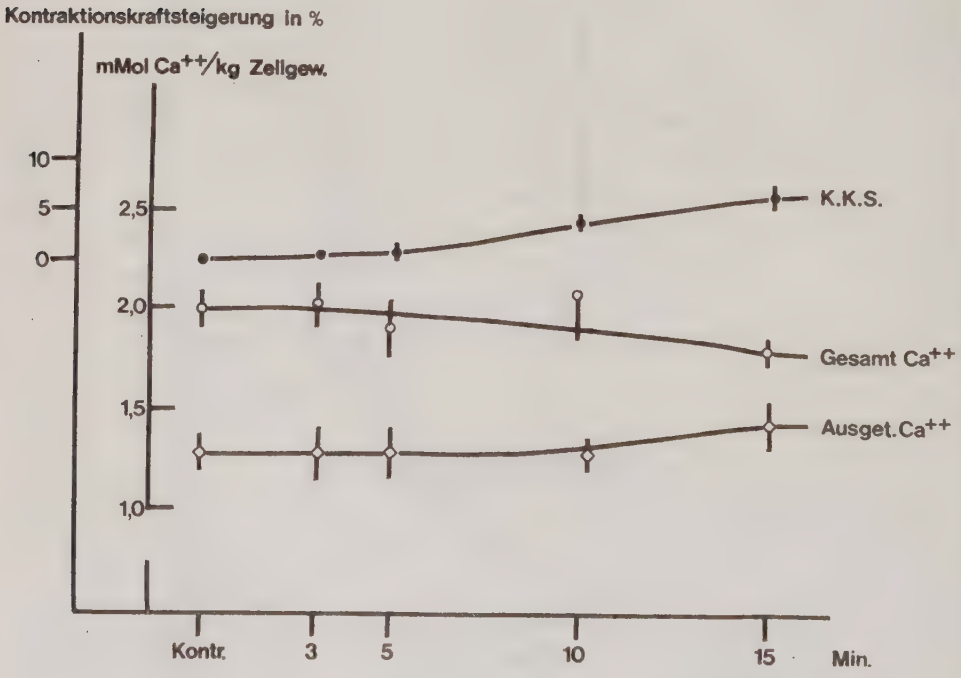


Abb. 8: Prozentuale Kontraktionskraftsteigerung, Ca^{2+}-Gehalt der Zelle sowie intrazellulär ausgetauschte Kalziumfraktion in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 0,1 µM g-Strophanthin

Die Kontraktionskraft nahm entsprechend der niedrigeren Strophanthinkonzentration innerhalb von 15 Minuten nur geringfügig um etwa 7 % zu. Ein Anstieg des ausgetauschten Kalziums sowie ein Abfall des Gesamtkalziums der Zelle waren angedeutet, jedoch nicht signifikant.

2.) Zellulärer Natrium- und Kaliumgehalt

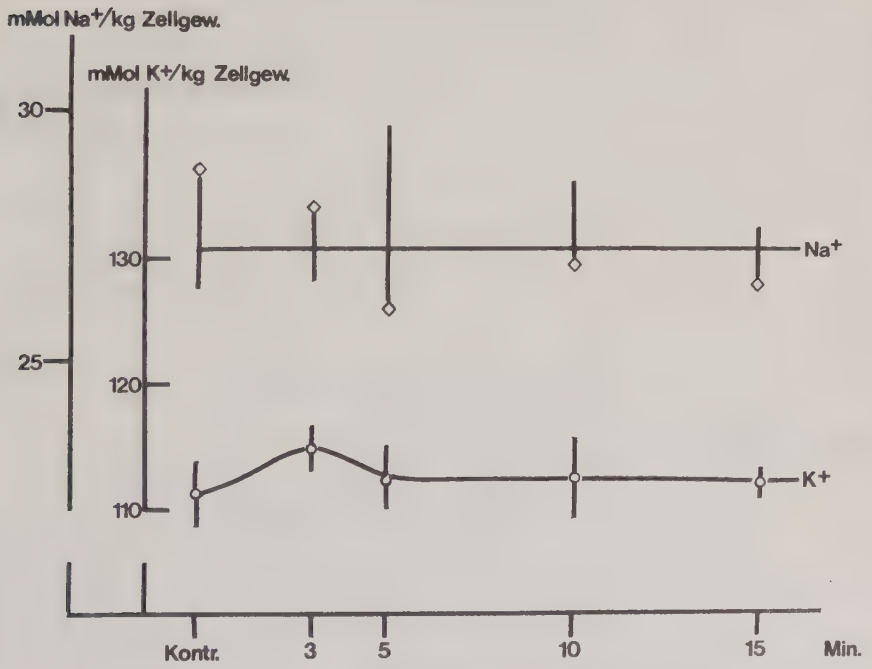


Abb. 9: Intrazelluläre K^+- und Na^+-Konzentration in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 0,1 µM g-Strophanthin

Drei Minuten nach Zugabe des Strophanthins fand sich eine nur geringe, deshalb nicht signifikante Erhöhung der intrazellulären K^+-Konzentration, die zwei Minuten später wieder verschwunden war. Deutbare Veränderungen des Natriumumsatzes waren nicht zu erkennen.

e) Isoproterenol in einer Konzentration von 18 nMol/l

In dieser Versuchsserie sollte durch Verwendung einer kontraktionskraftsteigernden Substanz mit anderem Wirkungsmechanismus geklärt werden, inwieweit es sich bei den beobachteten Elektrolytveränderungen um glykosidspezifische Effekte handelte.

1.) Kontraktionskraft, ausgetauschtes Kalzium, Gesamtkalziumgehalt der Zelle

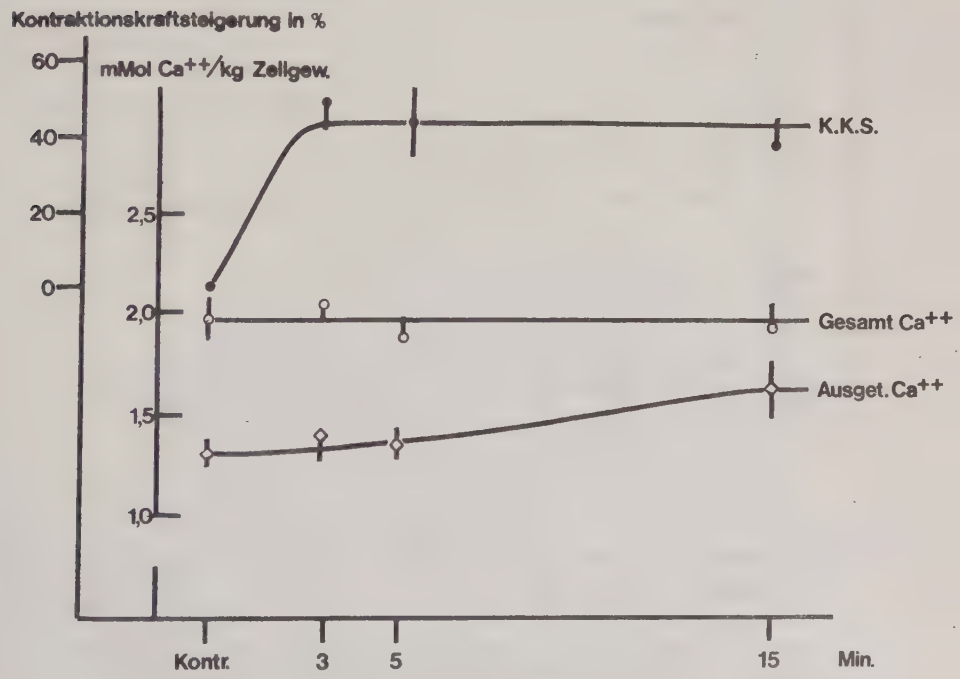


Abb. 10: Prozentuale Kontraktionskraftsteigerung, Ca^{2+}-Gehalt der Zelle sowie intrazellulär ausgetauschte Kalziumfraktion in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 18 nM Isoproterenol

Bereits drei Minuten nach Zugabe von Isoproterenol war die Kontraktionskraftsteigerung (durchschnittlich 45 %) abgeschlossen und ein stationärer Zustand erreicht. Das ausgetauschte Kalzium stieg kontinuierlich auf Werte an, die nach 15 Minuten um 25 % über dem Ausgangsniveau lagen ($p < 0,02$; $n = 8$). Am zellulären Kalziumgehalt zeigten sich keine Veränderungen.

2.) Zellulärer Natrium- und Kaliumgehalt

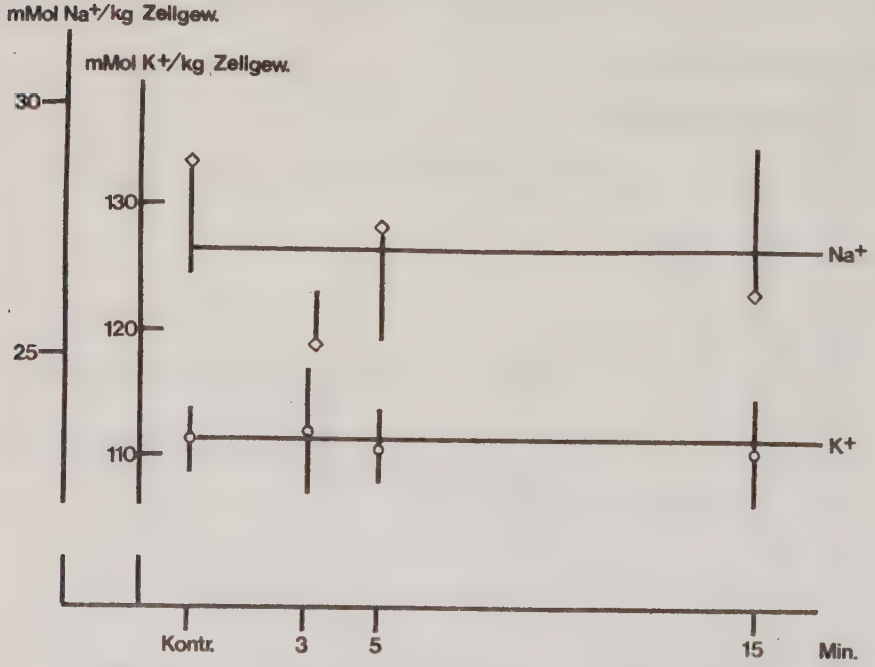


Abb. 11: Intrazelluläre K^+- und Na^+-Konzentration in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten mit 18 nM Isoproterenol

Während der gesamten Versuchsdauer konnten keine signifikanten Veränderungen am zellulären Kalium- oder Natriumgehalt festgestellt werden.

	K^+	Na^+	Gesamt Ca^{2+}	Ausget. Ca^{2+}	Kontraktionskraft
Kontrollwerte	$100,6 \pm 1,4$ n = 23	$22,6 \pm 1,2$ n = 21	$2,20 \pm 0,16$ n = 27	$1,00 \pm 0,03$ n = 18	$1,67 \pm 0,07$ p n = 28
3 Min. nach Zugabe von g-Stroph.	$110,5 \pm 3,2$ n = 8 p<0,005	$18,2 \pm 1,9$ n = 8 p<0,1	$2,19 \pm 0,28$ n = 9	$1,06 \pm 0,13$ n = 6	$+ 2,0 \pm 0,5$ % n = 10
5 Min.	$108,2 \pm 4,2$ n = 9 p < 0,05	$20,9 \pm 2,6$ n = 9 p < 0,4	$1,69 \pm 0,18$ n = 9 p < 0,1	$1,12 \pm 0,07$ n = 7 p < 0,1	$+ 4,0 \pm 0,8$ % n = 10
10 Min.	$101,6 \pm 1,9$ n = 9	$24,7 \pm 2,6$ n = 8	$1,76 \pm 0,14$ n = 10 p < 0,1	$1,22 \pm 0,07$ n = 7 p < 0,005	$+ 8,4 \pm 0,9$ % n = 10
15 Min.	$100,9 \pm 2,2$ n = 9	$20,5 \pm 2,2$ n = 8	$1,56 \pm 0,09$ n = 9 p < 0,05	$1,25 \pm 0,13$ n = 7 p < 0,001	$+ 11,1 \pm 1,0$ % n = 10

Tabelle 1: 0,2 µM g-Strophanthin; mittlere Größe des E. Z. R.: $30,8 \pm 0,5$ %, n = 56

Intrazelluläre Ionenkonzentrationen in $\frac{\text{mMol}}{\text{kg Zellgewicht}}$

	K^+	Na^+	Gesamt Ca^{2+}	Ausget. Ca^{2+}	Kontraktionskraft
Kontrollwerte	106, 9±1, 5 n = 21	26, 9±0, 9 n = 27	2, 63±0, 13 n = 23	1, 06±0, 03 n = 22	1, 76±0, 06 p n = 27
3 Min. nach Zugabe von Digitoxigenin	124, 3±4, 6 n = 8 p<0, 001	20, 7±2, 0 n = 9 p<0, 005	2, 49±0, 20 n = 9	1, 15±0, 06 n = 7	+ 6, 4±1, 5 % n = 10
5 Min.	103, 5±3, 5 n = 9	28, 2±2, 1 n = 9	2, 42±0, 37 n = 9	1, 23±0, 01 n = 8 p<0, 005	+ 18, 3±1, 2 % n = 10
10 Min.	104, 5±1, 9 n = 9	26, 2±0, 8 n = 8	2, 03±0, 21 n = 9 p<0, 02	1, 29±0, 04 n = 9 p<0, 001	+ 25, 3±3, 0 % n = 10
15 Min.	106, 5±2, 2 n = 9	23, 9±3, 6 n = 9	2, 06±0, 22 n = 10 p<0, 025	1, 26±0, 07 n = 9 p<0, 005	+ 22, 3±2, 1 % n = 10

Tabelle 2: 0, 6 µM Digitoxigenin; mittlere Größe des E. Z. R. : 30, 56±0, 42 %, n = 57

Intrazelluläre Ionenkonzentrationen in $\frac{\text{mMol}}{\text{kg Zellgewicht}}$

	K^+	Na^+	Gesamt Ca^{2+}	Ausget. Ca^{2+}	Kontraktionskraft
Kontrollwerte	$106,2 \pm 1,5$ n = 18	$24,4 \pm 1,2$ n = 17	$1,38 \pm 0,06$ n = 16	$0,74 \pm 0,05$ n = 18	$1,08 \pm 0,08$ p n = 18
1 Min. nach Zugabe von g-Stroph.	$103,8 \pm 3,1$ n = 7	$27,9 \pm 0,7$ n = 7	$1,25 \pm 0,06$ n = 7	$0,69 \pm 0,04$ n = 7	$+ 1,4 \pm 0,9$ % n = 7
3 Min.	$107,1 \pm 2,5$ n = 8	$25,4 \pm 1,2$ n = 7	$1,05 \pm 0,13$ n = 7	$0,74 \pm 0,02$ n = 7	$+ 2,9 \pm 1,5$ % n = 8
5 Min.	$113,2 \pm 0,8$ n = 8 $p < 0,01$	$19,8 \pm 0,5$ n = 7 $p < 0,025$	$1,08 \pm 0,09$ n = 7	$0,73 \pm 0,02$ n = 6	$+ 12,0 \pm 1,7$ % n = 7
10 Min.	$107,2 \pm 1,7$ n = 7	$24,4 \pm 2,9$ n = 8	$1,18 \pm 0,12$ n = 7	$0,74 \pm 0,07$ n = 7	$+ 19,7 \pm 3,4$ % n = 7
25 Min.	$103,9 \pm 0,5$ n = 7	$26,8 \pm 0,8$ n = 7	$1,19 \pm 0,10$ n = 8	$0,82 \pm 0,07$ n = 7	$+ 67,2 \pm 9,0$ % n = 8
40 Min.	$106,2 \pm 1,7$ n = 7	$26,1 \pm 0,8$ n = 6	$1,06 \pm 0,16$ n = 7 $p < 0,025$	$0,95 \pm 0,08$ n = 7 $p < 0,025$	$+ 120,9 \pm 16,5$ % n = 7

Tabelle 3: 0,25 µM g-Strophanthin; mittlere Größe des E. Z. R. : $28,92 \pm 0,33$ %, n = 53

Intrazelluläre Ionenkonzentrationen in $\frac{\text{mMol}}{\text{kg Zellgewicht}}$

	K^+	Na^+	Gesamt Ca^{2+}	Ausget. Ca^{2+}	Kontraktionskraft
Kontrollwerte	$111,4 \pm 2,6$ n = 13	$28,8 \pm 2,2$ n = 13	$1,99 \pm 0,10$ n = 13	$1,30 \pm 0,05$ n = 12	$1,76 \pm 0,07$ p n = 14
3 Min. nach Zugabe von g-Stroph.	$115,0 \pm 1,6$ n = 8	$28,0 \pm 1,4$ n = 7	$2,02 \pm 0,11$ n = 7	$1,29 \pm 0,12$ n = 7	$+ 0,25 \pm 0,08$ % n = 8
5 Min.	$112,6 \pm 2,8$ n = 7	$26,1 \pm 3,7$ n = 7	$1,93 \pm 0,14$ n = 7	$1,29 \pm 0,12$ n = 7	$+ 1,3 \pm 0,6$ % n = 6
10 Min.	$112,6 \pm 3,2$ n = 7	$26,9 \pm 1,7$ n = 7	$2,11 \pm 0,21$ n = 7	$1,29 \pm 0,07$ n = 7	$+ 3,4 \pm 1,0$ % n = 5
15 Min.	$112,6 \pm 1,5$ n = 8	$26,5 \pm 1,2$ n = 7	$1,78 \pm 0,08$ n = 7	$1,42 \pm 0,10$ n = 8	$+ 6,75 \pm 1,6$ % n = 8

Tabelle 4 : 0,1 µM g-Strophanthin; mittlere Größe des E. Z. R. : $26,8 \pm 0,4$, n = 56

Intrazelluläre Ionenkonzentrationen in $\frac{\text{m Mol}}{\text{kg Zellgewicht}}$

	K^+	Na^+	Gesamt Ca^{2+}	Ausget. Ca^{2+}	Kontraktionskraft
Kontrollwerte	$111,4 \pm 2,6$ n = 13	$28,8 \pm 2,2$ n = 13	$1,99 \pm 0,10$ n = 13	$1,30 \pm 0,05$ n = 12	$1,76p \pm 0,07$ p n = 14
3 Min. nach Zugabe von Isoproterenol	$112,0 \pm 4,8$ n = 8	$25,1 \pm 1,2$ n = 6	$2,07 \pm 0,08$ n = 8	$1,41 \pm 0,14$ n = 8	$+ 49 \pm 7$ % n = 8
5 Min.	$110,9 \pm 3,0$ n = 8	$27,6 \pm 2,3$ n = 8	$1,87 \pm 0,11$ n = 8	$1,36 \pm 0,06$ n = 7	$+ 44 \pm 10$ % n = 6
15 Min.	$110,2 \pm 4,5$ n = 8	$26,3 \pm 2,9$ n = 8	$1,93 \pm 0,13$ n = 8	$1,63 \pm 0,14$ n = 8 $p < 0,02$	$+ 38 \pm 7$ % n = 8

Tabelle 5: 18 nM Isoproterenol; mittlere Größe des E. Z. R.: $26,8 \pm 0,4$ %, n = 56

Intrazelluläre Ionenkonzentrationen in $\frac{\text{mMol}}{\text{kg Zellgewicht}}$

D Diskussion

Die in Gegenwart herzwirksamer Glykoside beobachteten Elektrolyteffekte betreffen einerseits den Kalziumstoffwechsel und andererseits den Kalium-/Natriumumsatz der Herzmuskelzelle.

a) Die Beeinflussung des zellulären Kalziumstoffwechsels durch herzwirksame Glykoside

Der prozentuale Anteil des ausgetauschten Kalziums am Gesamtkalziumgehalt der Zelle - gemessen als zelluläre ^{45}Ca-Aktivität 15 Minuten nach Zugabe des Isotops - betrug in den Kontrollversuchen durchschnittlich 41 bis 65 %. (Heinen und Noack, 1972, fanden 33 %; Klaus und Krebs, 1974, 59 %). Während der Glykosideinwirkung kam es in allen Fällen parallel mit der Kontraktionskraftsteigerung zu einer signifikanten Zunahme dieser Meßgröße: Bei g-Strophanthin (0,2 µM) betrug der Anstieg 25 % (Klaus und Krebs, 1974, fanden bei einer Konzentration von 0,15 µMol/l 20 %); bei Digitoxigenin (0,6 µM) 20 % (Heinen und Noack, 1972, fanden bei einer Konzentration von 0,8 µMol/l 27 %).

Die Vermehrung des ausgetauschten Kalziums durch herzwirksame Glykoside wurde auch von zahlreichen anderen Autoren beschrieben: Holland und Sekul (1959); Klaus und Kuschinsky (1962); Lüllmann und Holland (1962); Gersmeyer und Holland (1963); Klaus (1963); Govier und Holland (1964).

Sie deutet auf eine vermehrte Bereitstellung von Ca^{2+}-Ionen während der Systole hin. Eine mögliche Ursache wäre die Zunahme des Kalziuminfluxes. Während dieser Mechanismus für Katecholamine wie Isoproterenol durch Grossmann und Furchgott (1964), Reuter (1966), sowie Morgenstern et al. (1972) bestätigt wurde, scheint er

bei herzwirksamen Glykosiden keine Rolle zu spielen (Reuter und Beeler, 1969; Scholz, 1970). Hier nehmen Klaus et al. (1968) auf Grund von in-vitro-Versuchen vielmehr eine Veränderung der Bindung von Kalzium an Membran-Phospholipide an, die eine erleichterte Freisetzbarkeit von Ca^{2+}-Ionen während des Aktionspotentials zur Folge hätte.

Gervais et al. (1977) fanden an Membranpräparaten unter g-Strophanthin eine Vermehrung der Gesamtmenge des gebundenen und damit für die elektromechanische Koppelung zur Verfügung stehenden Kalziums.

Beide Effekte sind, alleine oder in Kombination auftretend, in der Lage, eine Vermehrung des ausgetauschten Kalziums bzw. der freien Ca^{2+}-Ionen während der Systole als unmittelbare Ursache der positiv inotropen Wirkung der Digitalisglykoside bzw. Digitaloide herbeizuführen.

Demgegenüber fand sich beim zellulären Gesamtkalziumgehalt eine Verminderung und zwar in Gegenwart von g-Strophanthin um 30 % (Heinen und Noack, 1972, fanden bei 0,8 µM k-Strophanthin 34 %; Klaus und Krebs, 1974, bei 0,15 µM g-Strophanthin 20 %. Bei Digitoxigenin betrug die Abnahme 20 % (Heinen und Noack, 1972, fanden 20 % bei einer Konzentration von 0,8 µMol/l). Der Konzentrationsabfall verlief dabei in den ersten Minuten der Glykosidinkubation mit ca. 80 % am deutlichsten.

Die Abnahme der Kalziumkonzentration, welche nach Langer und Brady (1963) sowie Langer (1964) in allen subzellulären Strukturen festzustellen ist, haben auch Klaus und Kuschinsky (1962), Lüllmann und Holland (1962) sowie Gersmeyer und Holland (1963) beschrieben. In Bezug auf den Mechanismus läßt ein verminderter zellulärer Kalziumgehalt bei unverändertem Kalziuminflux nur den Schluß auf einen vermehrten Kalziumefflux zu. Eine ursächliche Beteiligung der

sogenannten Kalziumpumpe hieran, die auf Grund der Notwendigkeit eines aktiven Transportes entgegen einem Konzentrationsgradienten gefordert werden muß, erscheint naheliegend. Sie könnte durch die Zunahme der intrazellulären freien Ca^{2+}-Ionen sekundär aktiviert werden. Auf einen möglichen Zusammenhang des aktiven Kalziumtransportmechanismusses mit der Membran-ATPase haben Heinen und Noack (1972), Kasparek (1976) und Lüllmann (1976) hingewiesen. Er wird nicht zuletzt wegen der bei toxischen Glykosiddosen festzustellenden Parallelität zwischen der Zunahme des Gesamtkalziumgehaltes der Herzmuskelzelle, der Abnahme des Kalziumeffluxes sowie der Hemmung der Membran-ATPase diskutiert.

Unter der Einwirkung von Isoproterenol blieb der zelluläre Gesamtkalziumgehalt, wie auch Morgenstern et al. (1972) fanden, unbeeinflußt, da ein zwar ebenfalls vermehrtes intrazelluläres freies Kalzium hier mit einem gesteigerten Ca^{2+}-Influx in Verbindung steht.

Bei einem Vergleich der Wirkung von g-Strophanthin und Digitoxigenin ergab sich weder für die Zunahme des ausgetauschten Kalziums noch für die Abnahme des zellulären Gesamtkalziumgehaltes eine zunächst naheliegende Korrelation mit der prozentualen Kontraktionskraftsteigerung. Stattdessen waren in den Digitoxigeninversuchen trotz stärkerer positiv inotroper Wirkung (Kontraktionskraftsteigerung 22 % gegenüber 11 % bei g-Strophanthin) beide Effekte (Anstieg des ausgetauschten Kalziums 20 %, Abnahme des Gesamtkalziums 20 %) geringer ausgeprägt als bei g-Strophanthin (Anstieg des ausgetauschten Kalziums 25 %, Abnahme des Gesamtkalziums 30 %).

Heinen und Noack (1972), die über ähnliche Ergebnisse berichteten, vermuten die Ursache hierfür in der durch die Lipophilie bestimmten

unterschiedlichen Penetrationsfähigkeit der herzwirksamen Glykoside ins Zellinnere. Entsprechend den bereits erwähnten Befunden von Gervais et al. (1977) könnte so Digitoxigenin auch in Membranen von Zellorganellen, die an der elektromechanischen Koppelung nicht beteiligt sind, zu einer vermehrten Kalziumbindung führen und dadurch die relativ geringere Abnahme des Gesamtkalziums bzw. Zunahme der ausgetauschten Ca^{2+}-Fraktion veranlassen.

b) Die Beeinflussung des zellulären Kalium- und Natriumumsatzes durch herzwirksame Glykoside

Für die Regulation der Natrium- und Kaliumkonzentrationsverhältnisse im Intra- und Extrazellulärraum ist die 1957 von Skou entdeckte membrangebundene ATPase von entscheidender Bedeutung.

Da einerseits Verschiebungen im Na^+- und K^+-Ionengehalt der Zelle mittelbar zu einer Veränderung der Kontraktilität der Herzmuskulatur führen können, und andererseits jenes Enzym spezifische Rezeptorstellen für Digitalisglykoside bzw. Digitaloide besitzt (Schwartz et al., 1969 und 1970; Lindenmayer und Schwartz, 1970; Peters et al., 1974; Godfraind, 1975; Lüllmann, 1976; Gervais et al., 1977), wurde bei der Erforschung des Wirkungsmechanismusses dieser Substanzgruppe dem zellulären Kalium- und Natriumumsatz sowie dem hiermit in engem Zusammenhang stehenden Aktivitätszustand der Membran-ATPase stets besondere Beachtung geschenkt.

Unter dem Einfluß hoher, d. h. toxischer Konzentrationen herzwirksamer Glykoside fanden als erste Calhoun und Harrison (1931) bei Hunden eine starke Abnahme des myokardialen Kaliumgehaltes. Teils auch in Kombination mit einer Zunahme des zellulären Na-

triums, die wegen der Konzentrationsverhältnisse sowie bei Annahme eines konstanten Wertes für den Extrazellulärraum technisch schwerer zu erfassen ist, wurde dieser Effekt in zahlreichen nachfolgenden Untersuchungen an verschiedenen Tierspezies und auch am Menschen bestätigt (Übersicht siehe Lee und Klaus, 1971). In Übereinstimmung hiermit ließ sich auch in vitro bei hohen Glykosiddosen eine Hemmung der Na^+/K^+-abhängigen Membran-ATPase beobachten (Carslake und Weatherall, 1962; Klein, 1963; Glynn, 1964; Repke, 1964 und 1965; Albers, 1967; Schwartz et al., 1968 und 1969; Besch et al., 1970).

Während aber eine kausale Beziehung zwischen der Toxität der Kardenolide und dieser Enzyminhibition als gesichert gelten kann, ist die Wirkung niedriger, "therapeutischer" Konzentrationen umstritten.

Viele Autoren geben auch hier qualitativ ähnliche Effekte wie unter toxischen Glykosiddosen an: So beobachteten Wood und Moe (1942), Ordobona und Manganelli (1954), Rayner und Weatherall (1957) sowie Sanyal und Saunders (1957) eine Abnahme der intrazellulären Kaliumkonzentrationen. In diesem Zusammenhang ist allerdings auf eine durch die sehr geringe therapeutische Breite der Digitalisglykoside bzw. Digitaloide bedingte Schwierigkeit zu verweisen, auch bei längerer Inkubationszeit sicher nichttoxische Konzentrationen für entsprechende Experimente an isoliertem Herzmuskelgewebe ausfindig zu machen. Aus diesem Grunde wurde in dieser Arbeit vor Beginn der eigentlichen Versuche eine genaue Dosis/Wirkungskurve für g-Strophanthin erstellt und ferner eine zusätzliche Versuchsreihe mit einer nur sehr schwach positiv inotropen , also entsprechend niedrigen Strophanthinkonzentration ausgeführt.

Intensiv ist in den vergangenen Jahren die Kaliumbilanz des Herz-

muskels durch Bestimmung der arteriovenösen Konzentrationsdifferenz, z. B. an isolierten und nach Langendorff perfundierten Tierherzen, untersucht worden. Mit dieser sehr genauen Versuchsmethode wurde unmittelbar im Anschluß an die Applikation ein zeitlich begrenzter K^+-Verlust von 3 - 4 % registriert (Harris et al., 1955, Hellems et al., 1956; Regan et al., 1956; Vick und Kahn, 1957; Blackman et al., 1960; Areskog, 1962; Greeff et al., 1962). Doch weisen bereits die Verfasser darauf hin, daß die geringe K^+-Abgabe nur von bestimmten, besonders empfindlichen Abschnitten des Herzgewebes, etwa dem Reizleitungssystem, ausgehen könnte. Lee und Klaus (1971) stellen hierauf eingehend das Vorliegen eines durch die Glykosidapplikation bedingten, kurzfristigen lokalen toxischen Effektes zur Diskussion . Möglicherweise ist die unter III c 2 des Ergebnisteils dieser Arbeit berichtete vorübergehende geringe Abnahme der K^+- und Zunahme der Na^+-Konzentration eine Minute nach Applikation des Pharmakons auf den gleichen Mechanismus zurückzuführen. -

Auch die einer Verminderung der zellulären K^+-Ionenkonzentration zugrundezulegende Hemmung der Membran-ATPase unter therapeutischen Glykosidkonzentrationen wurde bei in-vitro-Versuchen immer wieder beschrieben (Klein, 1963; Repke, 1964 und 1965; Glynn, 1964; Dransfeld et al., 1966; Albers, 1967; Schwartz et al., 1968 und 1969; Besch et al., 1970); hierbei lag die ID_{50} im Grenzbereich zwischen therapeutischen und toxischen Konzentrationen. Bei der Bewertung dieser Befunde ist aber zu berücksichtigen, daß in vivo eine beträchtliche Redundanz an Membran-ATPasenmolekülen besteht. Für die Stoffwechselleistung ist also normalerweise nur eine bestimmte Fermentfraktion verantwortlich, während bei Anwendung üblicher Präparationstechniken die Gesamt-

aktivität bestimmt wird. Infolgedessen kann nur unter Vorbehalt von einem bestimmten Funktionszustand der Membran-ATPase in vitro auf den K^+/Na^+-Umsatz in vivo zurückgeschlossen werden.

Der Hypothese eines kausalen Zusammenhanges mit der kontraktionskraftsteigernden Wirkung von Kardenoliden (Greeff, 1968; Akera et al., 1970; Besch et al., 1970) steht darüber hinaus entgegen, daß die aufgeführten Veränderungen im zellulären Na^+- und K^+-Gehalt, wie Lee (1961) darlegte, quantitativ für die Erzeugung des positiv inotropen Effektes nicht ausreichen. Ferner zeigten Okita (1973) und Peters et al. (1974), daß Kontraktionskraftsteigerung und in vitro beobachtete ATPasen-Hemmung zeitlich dissoziieren und einer Reversibilität der positiv inotropen Wirkung eine weitgehende Irreversibilität des Enzymeffektes gegenübersteht.

Mit dem oben Berichteten zunächst kaum vereinbar scheinen folgende Angaben in der Literatur zu sein: Hagen (1939), Morales und Acheson (1961), Tuttle et al. (1961), Carslake und Weatherall (1962), sowie Klaus et al. (1962) fanden unter der Einwirkung therapeutischer Glykosidkonzentrationen eine leichte Zunahme des K^+- bzw. Abnahme des Na^+-Gehaltes der Herzmuskelzelle. Außerdem wurde eine Aktivierung der Na^+/K^+-ATPase nach der Erstbeschreibung durch Repke (1963) durch folgende Untersuchungen bekräftigt: Lee und Yu (1963), Klein (1963), Palmer und Nechay (1964), Palmer et al. (1966), Peters et al. (1974); allerdings liegen die bei den in vitro-Studien applizierten Glykosiddosen weit unter den therapeutisch wirksamen, nämlich in der Größenordnung von nMol/l.

In den dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimenten wurde unter positiv inotropen, sicher nicht toxischen Konzentrationen

(g-Strophanthin: 0,2 µMol/l; Digitoxigenin: 0,6 µMol/l) nach dreiminütiger Inkubationszeit eine Vermehrung des Kaliumgehaltes um 10 - 18 mMol/kg Zellgewicht und eine Verminderung des Natriumgehaltes um 4 - 6 mMol/kg Zellgewicht registriert, die als energiefordernder Transport durch Stimulierung der Na^+/K^+-aktivierbaren Membran-ATPase aufzufassen sind. Nach Befunden von Langer (1967) läßt sich ein Na^+- Einstrom pro Aktionspotential von 0,04 mMol/kg Zellgewicht berechnen; im Gleichgewichtszustand müssen demzufolge bei einer Reizfrequenz von 1,5 Hz und dreiminütiger Schlagdauer mindestens 10,5 mMol/kg Zellgewicht durch die ATPase wieder aus der Zelle herausgepumpt werden. Der gefundene intrazelluläre Natriumverlust entspricht damit einer Aktivierung um 40 - 60 %. Legt man der Berechnung bei einem freilich nicht unumstrittenen Transportverhältnis K^+/Na^+ von 1/1 die experimentell exakter zu erfassenden Kaliumwerte zugrunde, so ergibt sich sogar eine Stimulierung von über 100 %, was bei der schon erwähnten Redundanz der Enzymmoleküle im Bereiche des Möglichen liegt.

Spätestens zehn Minuten nach Inkubationsbeginn war das Ausgangsniveau wieder erreicht, die zelluläre Natrium- bzw. Kaliumkonzentration entsprach den Kontrollwerten.

Parallelen zu diesen Ergebnissen finden sich in K^+-Fluxstudien, wo u. a. von Klaus et al. (1961) unter positiv inotropen Digitalisdosen eine initiale, zeitlich begrenzte Zunahme des Kaliumeinstromes beobachtet wurde.

Ebenfalls in einem "therapeutischen" Konzentrationsbereich stellte Repke (1963) bei in vitro-Studien nach Applikation verschiedener herzwirksamer Glykoside in den ersten fünf bis zehn Minuten der Inkubationszeit eine vorübergehende Aktivierung der Na^+/K^+-ATPase zwischen 15 % (0,5 µM Digitoxin) und 55 % (0,5 µM Digitoxigenin)

fest, die danach allerdings in die sonst beschriebene Hemmung des Enzyms überging.

Die Beobachtung, daß die beschriebenen Effekte nur vorübergehend auftreten, und zwar vor Abschluß der Kontraktionskraftsteigerung, ist möglicherweise die Erklärung dafür, daß in zahlreichen Studien eine Beeinflussung des Na^+- und K^+-Ionengehaltes der Zelle bei niedrigen Glykosidkonzentrationen nicht beobachtet wurden (Calhoun und Harrison, 1931; Hagen, 1939; Holland et al. 1954; Lee et al., 1960; Tuttle et al., 1961; Klaus et al., 1962 und 1963). Denn die entsprechenden Bestimmungen wurden in aller Regel erst nach längerer Inkubationszeit bzw. Erreichung der maximalen positiv inotropen Wirkung durchgeführt.

Der temporäre Charakter der gefundenen Veränderungen des Kalium- und Natriumumsatzes könnte als eine allmählich bereits einsetzende leichte toxische Wirkung bei "subtoxischen" Glykosidkonzentrationen interpretiert werden, in ähnlicher Weise wie es auch Brown et al. (1960), Morales und Acheson (1961) sowie Tuttle et al. (1962) für den von ihnen beschriebenen biphasischen Verlauf des K^+-Umsatzes beim Vergleich niedriger und hoher bzw. im Grenzbereich zur Toxozität gelegenen Digitalisdosen annehmen. Während des Versuches mit einer auf die Hälfte reduzierten Strophanthinkonzentration, nämlich 0,1 µMol/l, fand sich jedoch erneut keine konstante, sondern nur vorübergehende Erhöhung des zellulären K^+-Gehaltes, die entsprechend der verminderten Glykosidkonzentration nur gering und deshalb nicht mehr signifikant ausgeprägt war.

Als Ursache jener im Sinne einer Membran-ATPasenaktivierung gedeuteten intrazellulären Kalium- und Natriumveränderungen sind zwei verschiedene Mechanismen vorstellbar:

Einmal käme ein indirekter, durch die primäre Veränderung anderer intrazellulärer Ionenkonzentrationen ausgelöster Effekt in Betracht. Zu denken wäre hierbei insbesondere an die durch Glykoside vermehrt freigesetzten Ca^{2+}-Ionen. Sie könnten selbst zu einer Stimulierung des Membranenzyms führen - vor allem bei Annahme eines Zusammenhanges zwischen "Kalziumpumpe" und Membran-ATPase, wofür auch die in den ersten Minuten der Inkubation besonders deutliche Abnahme des Kalziumgehaltes der Zelle spräche. -Die Ca^{2+}-Ionen könnten andererseits über eine Verdrängung von Natrium aus intrazellulären Bindungsstellen und der sich daraus ergebenden Erhöhung des intrazellulären freien Na^{+}-Gehaltes wirksam werden; eine hierfür vorauszusetzende Konkurrenz zwischen Natrium und Kalzium ist mehrfach beschrieben worden: Reiter (1963); Lüttgau und Niedergerke (1958); Palmer und Posey (1967); Langer (1968); Reuter und Beeler (1969); Noack und Greeff.(1975).
Dieser Hypothese wiederspricht jedoch die Beobachtung, daß eine positiv inotrope Substanz aus einer anderen Stoffklasse, nämlich das Sympathomimetikum Isoproterenol, wohl ebenso wie die herzwirksamen Glykoside - wenn auch mit anderem Mechanismus- eine Vermehrung der freien Ca^{2+}-Ionen bewirkte, die bei Strophanthin und Digitoxigenin registrierten Kalium- und Natriumveränderungen jedoch ausblieben.
Die zweite Interpretationsmöglichkeit besteht in der Annahme einer vorübergehenden direkten Aktivierung der Membran-ATPase. Dieser Gedanke läßt sich in Verbindung bringen mit der schon zitierten in-vitro-Beobachtung einer Enzymstimulierung durch sehr niedrige, subtherapeutische Glykosidkonzentrationen, wie sie eine begrenzte Zeit nach der Applikation, während der Anflutung an die Zellmembran also, auch in vivo wirksam sein könnten.

McClane und Palmer et al. postulieren diesbezüglich bereits 1965 bzw. 1966 zwei verschiedene Arten von Rezeptoren für herzwirksame Glykoside an der Na^+/K^+-ATPase: Bei sehr geringen Digitaliskonzentrationen soll danach die Interaktion mit einem stimulierenden, bei höheren Konzentrationen hingegen die Interaktion mit einem inhibierenden Rezeptor dominieren, wobei sich letzterer Effekt auf Grund der Enzymredundanz im therapeutischen Bereich am Na^+/K^+-Umsatz noch nicht bemerkbar zu machen brauchte. Einen deutlichen Anhaltspunkt für die Berechtigung dieser Hypothese gewannen Godfraind und Ghysel-Burton (1977) bei der Untersuchung der Bindung von g-Strophanthin an die Membran-ATPase. Sie fanden hierbei zwei verschiedene Sättigungskinetiken: Eine im Konzentrationsbereich zwischen 1 und 10 nMol/l, der genau die in-vitro-Aktivierung abdeckt; und eine zweite Sättigungskinetik mit einer Dissoziationskonstanten von 0,39 µMol/l, die nahe der zwischen 0,25 µMol/l und 0,5 µMol/l angegebenen ED_{50} der Enzymhemmung liegt.

Abschließend stellt sich nun die Frage nach dem Zusammenhang zwischen der glykosidabhängigen Beeinflussung der Na^+/K^+-ATPase und des zellulären Kalziumstoffwechsels:
In ihrer schon zitierten Arbeit zeigten dazu Gervais et al. (1977), daß die beschriebenen Veränderungen der Kalziumbindung nur in Membranpräparaten mit intakten und digitalisempfindlichen ATPasenmolekülen auftreten. Da es ferner keinen Anhaltspunkt für einen spezifischen Digitalisrezeptor außerhalb des Enzyms gibt, kann auf eine Vermittlung der Kalziumeffekte herzwirksamer Glykoside durch die Na^+/K^+-ATPase geschlossen werden.

Ob bzw. inwieweit die beschriebene kardenolidspezifische Beeinflussung des zellulären Natrium- und Kaliumumsatzes und damit der Enzymaktivität am Mechanismus der Kontraktionskraftsteigerung beteiligt ist, kann beim jetzigen Erkenntnisstand nicht beurteilt werden. Folgende Beobachtungen könnten jedoch eventuell auf einen Zusammenhang hindeuten: Zwischen der Größe der positiv inotropen Wirkung und dem Ausmaß der Stimulierung der Membran-ATPase scheint eine Korrelation zu bestehen: Je stärker nämlich die Kontraktionskraft anstieg (g-Strophanthin: 11 %, Digitoxigenin: 22 %), desto größer war auch der zelluläre Kaliumgewinn (g-Strophanthin: 10 %, Digitoxigenin: 17 %). Ferner liefen positiv inotrope Wirkung und ATPaseneffekt zeitlich parallel zueinander ab: So entwickelte sich bei einer auf die Hälfte reduzierten Kalziumkonzentration der Badlösung nicht nur die strophanthininduzierte Kontraktionskraftsteigerung, sondern auch die Enzymaktivierung mit einer Verzögerung von einigen Minuten; bei den Versuchen mit Digitoxigenin waren dagegen beide Effekte verglichen mit der Wirkung von g-Strophanthin rascher ausgebildet.
Trotzdem ist auch sehr wohl denkbar, daß die geschilderten Veränderungen im Kalium/Natriumgehalt einerseits und im Kalziumumsatz andererseits zwar beide glykosidbedingt, aber von einander unabhängig sind.

E Zusammenfassung

An isolierten, elektrisch gereizten linken Meerschweinchenvorhöfen finden sich unter der Einwirkung therapeutischer Konzentrationen herzwirksamer Glykoside folgende Veränderungen des zellulären Elektrolytumsatzes:

1.) Nach 15-minütiger Inkubationszeit ist die Fraktion des intrazellulär ausgetauschten Kalziums signifikant vergrößert.

2.) Gleichzeitig ist der Gesamtkalziumgehalt der Zelle signifikant vermindert.

3.) Sowohl für die Zunahme des ausgetauschten Kalziums als auch für die Abnahme des Gesamtkalziums läßt sich bei einem Vergleich zwischen g-Strophanthin und Digitoxigenin keine Korrelation mit der Kontraktionskraftsteigerung feststellen.

4.) In den ersten drei bis fünf Minuten der Glykosideinwirkung findet sich eine vorübergehende signifikante Erhöhung der intrazellulären Kaliumkonzentration bei gleichzeitiger signifikanter Verminderung der intrazellulären Natriumkonzentration, was als Stimulierung der membrangebundenen Na^+/K^+-aktivierbaren ATPase gedeutet werden kann.

5.) Der temporäre Charakter dieses Effektes bleibt auch bei Reduzierung der Glykosidkonzentration erhalten.

6.) Das Ausmaß der zellulären Kalium- und Natriumveränderungen scheint mit der Größe der positiv inotropen Wirkung zu korrelieren.

7.) Es besteht ein Zusammenhang zwischen der zeitlichen Ent-

wicklung der Kontraktionskraftsteigerung und der Beeinflussung des Kalium-/Natriumumsatzes der Herzmuskelzelle.

8.) Die Verminderung des Gesamtkalziumsgehaltes sowie die vorübergehende Erhöhung der K^+- und Verminderung der Na^+-Konzentration der Herzmuskelzelle sind in Gegenwart von Isoproterenol nicht zu beobachten und können daher als glykosidspezifisch angesehen werden.

Herrn Professor Dr. med. K. Greeff danken wir für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Unser besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. E. A. Noack für die Überlassung des Themas und die Betreuung der Arbeit.

Frl. K. Stöcker und Herrn G. Steinbach danken wir für die technische Anleitung.

Literaturverzeichnis

Akera, T., Larson, F. S., Brody, T. M.: Correlation of cardiac sodium- and potassium-activated adenosine triphosphatase activity with ouabain - induced inotropic stimulation. J. Pharmacol. Exp. Ther. 173, 145 - 151, 1970

Albers, R. W.: Biochemical aspects of active transport. Ann. Rev. Biochem. 36: 727 - 756, 1967

Areskog, N. H.: Electrolyte effect of cardiac glycosides on dog`s heart-lung Preparation. Acta physiol. scand. 55: 264, 1962, Effects of two rapid acting cardiac glycosides on dog`s heart-lung Preparation. Acta physiol. scand 55:139, 1962

Baker, P. F., Blaustein, M. P., Hodgkin, A. L., Steinhardt, R. A.: The influence of calcium on sodium efflux in squid axons. J. Physiol. London 200 : 431 - 458, 1969

Bauer, H.: Über die Bestimmung und die Größe des Extrazellulärraumes von Meerschweinchenvorhöfen, Thesis, Mainz, 1961

Beeler, G. W., Jr Reuter, H.: Membrane calcium current in ventricular myocardial fibers. J. Physiol. London 207: 191 - 209, 1970

Besch, H. R., Allen J. C., Glick, G., Schwartz, A.: Correlation between the inotropic action of ouabain and its effects on

subcellular enzyme systems from canine myocardium. J. Pharmacol. Exp. Ther. 171: 1 - 12, 1970

Blackman, J. R., Hellenstein, H. K., Gillespie, L., and Berne, R. M.: Effect of digitalis glycosides in the myocardial sodium and potassium balance. Circ. Res. 8: 1003 - 1012, 1960

Brown, T. E., Grupp, G. and Acheson, G. H.: Potassium balance of the dog heart: Effects of increasing heart rate and of pentobarbital and dihydro-ouabain. J. Pharmacol. Exp. Ther. 129: 42 - 48, 1960

Calhoun, K. A. and Harrison, T. R.: Studies in congestive heart failure. IX. The effect of digitalis on the potassium content of the cardiac muscle of dogs. J. Clin. Invest. 10: 139 - 144, 1931

Carslake, M. C. and Weatherall, M.: Changes in the sodium, potassium and chloride of rabbit auricles treated with ouabain J. Physiol. London 163: 347 - 361, 1962

Chapman, R. A.: Experimental alteration of the relationship between the external calcium concentration and the contractile force generated by auricular trabeculae isolated from the heart of the frog, Rana pipiens. J. Physiol. London 218: 147 - 161, 1971

Dransfeld, H., Greeff, K., Berger, H., Cautius, V.: Die verschiedene Empfindlichkeit der Na^+/K^+-aktivierten ATPase des Herz-

und Skelettmuskels gegen k-Strophanthin. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exper. Path. Pharmak. 254, 225 - 234, 1966

Egli, K.: Der Einfluß der extrazellulären Kalium- und Kalziumkonzentration auf den Elektrolythaushalt, die Kontraktionskraft und den Extrazellulärraum isolierter Meerschweinchenvorhöfe. Dissertation, Düsseldorf, 1975

Fleckenstein, A., Kaufmann, R.: Über den Einfluß der extrazellulären K^+-Konzentrationen auf das mechanische Verhalten des isolierten Warmblüter-Myokards (Papillarmuskeln von Rhesusaffen). Pflueger's Arch. 298: R 17 - R 18, 1966

Gersmeyer, E. F. and Holland, W. C.: Effect of heart rate on action of ouabain on Ca exchange in guinea-pig left atria.
Amer. J. Physiol. 205: 795 - 798, 1963

Gervais, A., Lane, L. K., Anner, B. M., Lindenmayer, G. E., Schwartz, A.: A possible molecular mechanism of the action of digitalis. Circul. Res. 40: 8 - 19, 1977

Geyer, R. P., Bowie, E. J.: The direct microdetermination of tissue calcium by flame photometrie. Anal. Biochem. 2: 360 - 369, 1961

Glynn, I. M.: The action of cardiac glycosides on ion movement. Pharmacol. Rev. 16: 381 - 407, 1964

Godfraind, T., Ghysel-Burton, J.: Binding sites related to ouabain-induced stimulation or inhibition of the sodium pumps. Nature Vol 265 January 13, 1977.

Govier, W. C. and Holland, W. C.: Effects of ouabain on tissue calcium exchange in pacemaker of turtle heart. Amer. J. Physiol. 207: 195 - 198, 1964

Greeff, K., Meng, K., Moog, E.: Der Einfluß nichttoxischer und toxischer Konzentrationen herzwirksamer Glykoside auf die Kaliumbilanz isolierter Herzpräparate. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. und Pharm. 244:270 - 282, 1962

Greeff, K.: Zum Wirkungsmechanismus der Digitalisglykoside. Aus: Probleme der klinischen Prüfung herzwirksamer Glykoside, Kreislaufbücherei 24, 12 - 24, Dr. Dietrich Steinkopff-Verlag, 1968

Grossmann, A. Furchgott, R. F.: The effects of various drugs on calcium exchange in the isolated guineapig left auricle. J. Pharmacol. Exp. Ther. 145: 162 - 172, 1964

Hafner, D., Heinen, E., Noack, E.: Mathematical analysis of concentration - response relationships. Drug Research 27 (II): 1871 - 1873, 1977

Hagen, P. S.: The effects of digilanid C in varyling dosage upon the potassium and water content of rabbit heart muscle. J. Pharmacol. Exp. Ther. 67: 5o - 55, 1939

Harris, A.S., Firestone, J. E. and Liptak, R. A.: Relation of potassium ions in extracellular fluid to ectopic ventricular arrhytmias by K- Strophanthoside. Circ. Res. 12: 718 - 719, 1955

Heinen, E. and Noack, E.: Effects of k-Strophanthin and Digitoxigenin on contractile force, calcium content and exchange in guinea-pig isolated atria. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 275: 359 - 371, 1972

Hellems, H. K., Regan, T. J., Talmers, F. N., Christensen, R. C. and Wada, T.: The mode of action of actyl strophantidin on the failing human heart. J. Clin. Invest. 35: 710,1956

Holland, W. C., Greig, M. E. and Dunn, C. E.: Factors affecting the action of lanatoside C on the potassium content of isolated perfused guinea-pig hearts. Amer. J. Physiol. 176: 227 - 231, 1954

Holland, W. C. and Sekul, A. A.: Effect of ouabain on ^{45}Ca and ^{38}Cl exchange in isolated rabbit atria. Amer. J. Physiol. 197: 757 - 760, 1959

Kanda, Z., Sekiya, A., Sakai, K., Ueno, N., Kamai, T.: Studies on the potassium content on the heart muscle receiving k-Strophanthin and the influence of potassium on the

respiration of heart muscle. Jap. J. Pharmacol. 6: 105, 1957

Kasparek, R.: Effects of ouabain on rate of calcium exchange under different stimulation frequencies in guinea-pig left auricles. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. Suppl. to 293: 98, 1976

Klaus, W.: Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Digitoxigeninderivate auf die Kontraktionskraft und den Ca-Austausch isolierter Meerschweinchenvorhöfe. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 246: 226 - 239, 1963

Klaus, W., Alpermann, H. G., Gerber, H. G., Krebs, R.: In-vitro-Untersuchungen über den Einfluß von Digitoxin auf die Aufnahme von Calcium in Lipoidextrakte aus dem Herzmuskel. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 263: 230 - 231, 1969

Klaus, W., Krebs, R.: Kinetische Analyse der Calciumkompartimente im Meerschweinchenherzen unter Kontrollbedingungen und Strophanthineinwirkung. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 283: 277 - 292, 1974

Klaus, W., Kuschinsky, G. and Lüllmann, H.: Über den Zusammenhang zwischen positiv inotroper Wirkung von Digitoxigenin, Kaliumfluß und intracellulären Ionenkonzentrationen im Herzmuskel. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 242: 480 - 496, 1962

Klaus, W., Kuschinsky, G. :Über die Wirkung von Digitoxigenin auf den cellulären Calciumumsatz im Herzmuskelgewebe. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 244: 237 - 253, 1962

Klaus, W., Kuschinsky, G. and Lüllmann, H. : The influence of therapeutic and toxic concentration of digitoxigenin on the K^+-flux and the ion concentrations in isolated guinea-pig auricles. In Proceedings of the First International Pharmacological Meeting, Stockholm, 1961, vol. 3, p. 211, Pergamon Press, New York, 1963

Klein, R. L. : The induction of a transfer adenosine triphosphohydrolase in embryonic chick heart. Biochem. Biophys. Acta 73: 488 - 498, 1963

Kleinzeller, A., Knotkova, A. : Evaluation of the extracellular space of tissue slices from steady-state kinetics. Biochem. Biophys. Acta 126: 604 - 605, 1966

Kuschinsky und Lüllmann: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, Thieme, Stuttgart: 93 - 109, 1976

Langer, G. A. : A kinetic study of calcium distribution in ventricular muscle of the dog, Circ. Res. 15: 393 - 405, 1964

Langer, G. A. : Sodium exchange in dog ventricular muscle J. Gen. Physiology 50: 1221 - 1239, 1967

Langer, G. A. : Ion fluxes in cardiac excitation and contraction and their relation to myocardial contractility. Physiol. Rev. 48: 708 - 757, 1968

Langer, G. A.: Physiology in medicine: The intrinsic control of myocardial contraction - ionic factors. N. Eng. J. Med. 285: 1065 - 1071, 1971

Langer, G. A.: Heart: Excitation - contraction coupling. Ann. Rev. Physiol. 35: 55 - 86, 1973

Langer, G. A., Brady, A. J.: Calcium flux in the mammalian ventricular myocardium. J. Gen. Physiol. 46: 703 - 720, 1963

Lee, K. S.: Relation of cations to the inotropic and metabolic actions of cardiac glycosides. In Proceedings of First International Pharmacological Meeting, 1961, vol. 3, pp. 185 - 201, Pergamon Press, New York, 1963

Lee, K. S., Hong, S. A. and Kang, D. H.: Effect of the cardiac glycosides on interaction of Ca^{2+} with mitochondria. J. Pharmacol. Exp. Ther. 172: 180 - 187, 1969

Lee, K. S., Klaus, W.: The subcellular basis for the mechanism of inotropic action of cardiac glycosides. Pharmacol. Rev. 23: 193 - 261, 1971

Lee, K. S. and Yu, D. H.: A study of the sodium - and potassium-activated adenosinetriphosphatase activity of heart microsomal fraction. Biochem. Pharmacol.: 1253 - 1264, 1963

Lee, K. S., Yu, D. H. and Burstein, R.: The effect of ouabain on the oxygen consumption, the high energy phosphates and the contractility of the cat papillary muscle. J. Pharmacol. Exp. Ther. 129: 115 - 122, 1960

Lindenmayer, G. E. and Schwartz, A.: Studies on the mechanism of cardiac glycoside-induced inhibition of Na^+-K^+-ATPase activity. Pharmacologist 12: 240, 1970

Little, G. R., Sleator, W. W.: Calcium exchange and contraction strength of guinea pig atrium in normal and hypertonic media. J. Gen. Physiol. 54: 494 - 511, 1969

Lüllmann, H. and Holland, W. C.: Influence of ouabain on an exchangeable calcium fraction, contractile force, and resting tension of guinea-pig atria. J. Pharmacol. Exp. Ther. 137: 186 - 192, 1962

Lüttgau, H. Ch., Niedergerke, R.: The antagonism between Ca^{2+} and Na^+ ions on the frog's heart. J. Physiol. 143: 486 - 505, 1958

Mascher, D., Peper, K.: Two components of inward current in myocardial muscle fibers. Pflueger's Arch. 307: 190 - 203, 1969

McClane, T. K.: A biphasic effect of ouabain on sodium transport in the toad bladder. J. Pharmacol. Exp. Ther. 148: 106 - 148, 1965

Morales, A. G. and Acheson, G. H.: Effects of veratridine on the

potassium balance of the dog heart-lung preparation. J. Pharmacol. Exp. Ther. 134: 230 - 244, 1961

Morgenstern, M., Noack, E., Köhler, E.: The effects of isoprenaline and tyramine on the ^{45}Ca uptake, the total calcium content and the contraction force of isolated guinea-pig atria in dependence on different extracellular hydrogen ion concentrations. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 274: 125 - 137, 1972

New, W., Trautwein, W.: Ionic nature of slow inward current and its relation to contraction. Pflueger's Arch. 334: 24 - 28, 1972

Niedergerke, R.: The rate of action of calcium ions on the contraction of the heart. J. Physiol. London 138, 506 - 515, 1957

Niedergerke, R.: Calcium and activation of contraction. Experientia 15: 128 - 130, 1959

Noack, E., Greeff, K.: Ca^{2+} uptake and storage in isolated heart mitochondria influenced by Na^{+} and K^{+}. Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism, vol. 5,; Basis functions of Cations in Myocardial Activity. University Oark Press, Baltimore, 1975

Noack, E., Heinen, E.: Relationship between cellular electrolytes and the contraction force of isolated guinea-pig atria with special regard to the extracellular space volume. Life Sciences 22 (8), 685 - 694, 1978

Ochi, R.: The slow inward current and the action of manganese ions in guinea-pig's myocardium. Pflueger's Arch. 316: 81 - 94, 1970

Okita, G. T., Richardson, F., Roth-Schechter, B. F.: Dissociation of the positive inotropic action of digitalis from inhibition of sodium- and potassium-activated adenosine triphosphatase. J. Pharmacol. Exp. Ther. 185: 1 ff, 1973

Ordabona, M. L. and Manganelli, G.: Modificazioni del K^+ nei tessuti di ratti sottoposti a sforzo ad in ratti tratti con digitale. Nota II. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 30: 10 -12, 1954

Palmer, R. F., Lasseter, K. C. and Melvin, S. L.: Stimulation of Na^+ - and K^+-dependent adenosine triphosphatase by ouabain. Arch. Biophys. 113: 629 - 633, 1966

Palmer, R. F. and Nechay, B. R.: Biphasic renal effects of ouabain in the chicken: Correlation with a microsomal Na^+-K^+-stimulated ATPase. J. Pharmacol. Exp. Ther. 146: 92 - 98, 1964

Palmer, R. F. and Posey, V. A.: Ion effects on calcium accumulation by cardiac sarcoplasmatic reticulum. J. Gen. Physiol. 50 : 2085 - 2095, 1967

Peters, T., Raben, R. H. and Wassermann, O.: Evidence for a dissociation between positive inotropic effect and inhibition

of the Na^+-K^+-ATPase by ouabain, cassaine and their alkylating derivatives. Eur. J. Pharmacol. 26: 166 - 174, 1974

Rayner, B. X. and Weatherall, M.: Digoxin, ouabain and potassium movements in rabbit auricles. Brit. J. Pharmacol. 12: 371 - 381, 1957

Regan, T. J., Talmers, F. N. and Hellems, H. K. Myocardial transfer of sodium and potassium: Effect of acetyl strophanthidin in normal dogs. J. Clin. Invest. 35: 1220 - 1228, 1956

Reiter, M.: Die Beziehung von Calcium und Natrium zur inotropen Glykosidwirkung. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 245:487-499, 1963

Repke, K.: Metabolism of cardiac glycosides. In Proceedings of the First International Pharmacological Meeting, Stockholm, 1961, vol. 3, pp. 47 - 73, Pergamon Press, New York, 1963

Repke, K.: Über den biochemischen Wirkungsmodus von Digitalis. Klin. Wochensch. 42: 157 - 165, 1964

Repke, K.: Effect of digitalis on membrane adenosine triphosphatase of cardiac muscle. In Drugs and Enzymes, Proceedings of 2nd International Pharmacological Meeting, pp. 65 - 87, Pergamon Press, New York, 1965

Reuter, H.: Strom-Spannungsbeziehungen von Purkinjefasern bei verschiedenen extrazellulären Ca-Konzentrationen und unter Adrenalineinwirkung. Pfluegers Arch. Gesamte Physiol. 287: 357 - 367, 1966

Reuter, H., Beeler, G. W., Jr: Calcium current and activation of contraction in ventricular myocardial fibers. Science 162: 399 - 401, 1969

Sanyal, P. N. and Saunders, P. R.: Action of ouabain upon normal and hypodynamic myocardium. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95: 156 - 157, 1957

Sarnoff, S. J., Gilmore, J. P., Mc Donald, R. H., Jr., Daggett, W. M. Wersfeld, M. L. and Mansfield, P. B.: Relationship between myocardial K^+ balance, oxygen consumption and contractility. Amer. J. Physiol. 211: 361 - 375, 1966

Scholz, H.: Elektrophysiologische und Isotopen-Versuche zur positiv inotropen Wirkung von Theophyllin, Adrenalin und Digitoxigenin am Warmblüterherzen. Habil.-Schrift, Mainz 1970.

Schwartz, A., Matsui, H. and Laughter, A. H.: Tritiated digoxin binding to Na^+-K^+-activated adenosine triphosphatase: Possible allosteric site. Science 159: 323 - 325, 1968

Schwartz, A., Allen, J. C. and Harigaya, S.: Possible involvement of cardiac Na^+-K^+-ATPase in the mechanism of action of cardiac glycosides. J. Pharmacol. Exp. Ther. 168: 31 - 41, 1969

Schwartz, A., Nagai, K. and Lindenmayer, G. E.: Fluorescent

probe study showing possible conformational changes of Na^+-K^+-ATPase. Pharmacologist 12: 240, 1970

Skou, J. C.: The influence of some cations on an adenosine-triphosohatase from peripheral nerves. Biochim. Biophys. Acta 23: 394 - 401, 1957

Sulser, F.: Die Wirkung von Herzglykosiden und Kalzium auf den Kaliumtransport im Herzmuskel. Experientia (Basel), 15: 97, 1959

Tuttle, R. S., Witt, P. N. and Farah, A.: The influence of ouabain on intracellular sodium and potassium concentrations in the rabbit myocardium. J. Pharmacol. Exp. Ther. 133: 281 - 287, 1961

Vick, R. L., and Kahn, J. B.: The effects of ouabain and veratridine on potassium movements in the isolated guinea-pig heart. J. Pharmacol. exp. Ther. 121: 389, 1957

Winegrad, S., Shanes, A. M.: Calcium flux and contractility in guinea-pig atria. J. Gen. Physiol. 45: 371 - 394, 1962

Wood, E. H., and Moe, G. K.: Correlation between serum potassium changes in the heart-lung preparations an the therapeutic and toxic effect of digitalis glycosides, Amer. J. Phys. 129: 499, 1940

Wood, E. H., Moe, G. K.: Electrolyte and water content of the ventricular musculature of the heart-lung prepraration with special reference to the effects of cardiac glycosides. Amer. J. Physiol. 136: 515 - 522, 1942

Joachim Felgenträger,

geb. am 30. 12. 1954 in M. Gladbach

als Sohn des Industriekaufmanns Heinz Felgenträger und seiner Ehefrau Marianne, geb. Kamps.

Von 1961 bis 1965 Besuch der Katholischen Volksschule Marktfeldstraße und von 1965 bis 1973 des Stiftischen Humanistischen Gymnasiums in Mönchengladbach; ebendort Abitur 1973.

Seit 1973 Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf.

Bernd Zettner,

geb. am 6.11. 1954 in Kleinenbroich

als Sohn des Bundesbahnbeamten Jakob Zettner und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Hügens.

Von 1961 bis 1965 Besuch der Katholischen Volksschule Kleinenbroich-Eickerend und von 1965 bis 1973 des Stiftischen Humanistischen Gymnasiums in Mönchengladbach; ebendort Abitur 1973.

Seit 1973 Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf.

Druck: D. Gräbner, 8602 Altendorf - Tel. 09545/8791